

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**

**UNIDAD ACÁDEMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
RECURSOS NATURALES**



**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O  
ANTAGONISTAS DE GnRH COMO MODULADORES DE  
INMUNOSUPRESIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN  
LAGOMORFOS”**

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

**AUTORAS:**

SANDRA DEL CARMEN RAMOS SAILEMA

CARMEN ESTEFANIA NOLASCO CAIZA

**DIRECTOR:**

DR. MIGUEL ÁNGEL GUTIÉRREZ REINOSO

**LATACUNGA – ECUADOR**

**2016**

## AUTORÍA

Nosotras , Sandra del Carmen Ramos Sailema y Carmen Estefania Nolasco Caiza, declaramos que el trabajo aquí descrito, la responsabilidad de la investigación, ideas expuestas, resultados y conclusiones de la presente tesis es de nuestra autoría y que no ha sido 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 este trabajo, según lo establecido con la ley de propiedad intelectual, por su reglamentó y por la normativa institucional vigente.

-----  
Sandra del Carmen Ramos Sailema

C. C. 1804621934

**Autora**

-----  
Carmen Estefania Nolasco Caiza

C. C. 1723179592

**Autora**

# **CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS**

**Lic. Msc.**

**Nelson Corrales**

**DIRECTOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES.**

Presente.-

De mi consideración.

Reciba un cordial saludo y a la vez deseándole éxitos en sus funciones como Director Académico.

En mi calidad de director de tesis titulada “**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GnRH COMO MODULADORES DE INMUNOSUPRESIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN LAGOMORFOS**” Propuesto por las egresadas, **Sandra del Carmen Ramos Sailema y Carmen Estefania Nolasco Caiza**, como requisito previo a la obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista, de acuerdo con el Reglamento de Títulos y Grados, considero que el trabajo mencionado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que se designe.

.....  
Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

**Director de Tesis**

## **CARTA DE APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL**

En calidad de miembros del tribunal de la tesis de grado titulada, **“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GnRH COMO MODULADORES DE INMUNOSUPRESIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN LAGOMORFOS”**, Propuesto por las egresadas, **Sandra del Carmen Ramos Sailema y Carmen Estefania Nolasco Caiza**, como requisito a la obtención de grado de Médico Veterinario y Zootecnista, de acuerdo con el Reglamento de títulos y grados, consideramos que el trabajo mencionado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador.

Por lo antes expuesto se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg. ....  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrín Mg. ....  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Dr. Edwin Orlando Pino Panchi Mg. ....  
**OPOSITOR DEL TRIBUNAL**

## ***AGRADECIMIENTO***

Agradecemos a Dios por el regalo de la vida y la sabiduría que nos ha otorgado para llevarnos por la dirección correcta, ayudándonos en el desempeño de responsabilidades en forma aceptable y logrando así una meta muy importante como es la culminación de nuestros estudios.

A nuestros familiares y amigos, que siempre estuvieron con nosotros apoyándonos y proporcionándonos aliento en cada etapa para culminar con éxito nuestra vida profesional.

A nuestra querida institución Universidad Técnica de Cotopaxi, a la Carrera de Medicina Veterinaria, por recibirnos algunos años de nuestra vida, permitiéndonos formar como personas y profesionales. Al Dr. Miguel Gutiérrez, por el apoyo que generosamente nos ha brindado en la ejecución de este trabajo en calidad de director de tesis, además a las instituciones, privadas Laboratorio de Diagnóstico Clínico Veterinario “ANIMALAB” al Dr. Hernán Calderón, Laboratorio Clínico “SAN FRANCISCO” a la Lic. María Lema, a la Clínica Veterinaria “DINO SUR” al Dr. Alex Bedoya y MVZ. Polo Iza, que con su apoyo nos ha permitido desarrollar el presente trabajo.

Nuestra profunda gratitud y reconocimiento por el apoyo y la predisposición a Lcda. Margoth Barrionuevo, Dr. Jorge Espinosa, Dr. Nelson Cabrera, Dr. Patricio Sandoval y a la Dra. Marcela Barrera, profesionales de Laboratorios AGROCALIDAD Quito-Ecuador, y en especial a su director Dr. Luis Ramos PhD, por la apertura hacia las tesis de todas las universidades del país.

## ***DEDICATORIA***

A Dios por ser nuestro esfuerzo y sustento en cada etapa de nuestra vida, para Él toda la honra y gloria.

A nuestros padres y familiares por sus consejos, apoyos económicos y morales, pues en cada etapa de nuestra vida universitaria, nos brindaron aliento para alcanzar nuestro objetivo y así lograr cumplir con éxito nuestra profesión.

A nuestros amigos por estar ahí en todo momento brindando su apoyo constante.

“Hay quienes no pueden imaginar un mundo sin pájaros; hay quienes no pueden imaginar un mundo sin agua; en lo que se refiere a nosotras, somos incapaces de imaginar un mundo sin libros.”

*Estefania Nolasco y Sandra Ramos*

# ÍNDICE DE CONTENIDO

## Índice de preliminares

<b>AUTORÍA</b> .....	i
<b>CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS</b> .....	ii
<b>CARTA DE APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iv
<b>DEDICATORIA</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	vi
<b>Índice de preliminares</b> .....	vi
<b>Índice de ilustraciones</b> .....	xi
<b>Índice de cuadros</b> .....	xii
<b>Índice de tablas</b> .....	xiii
<b>RESUMEN</b> .....	xvii
<b>ABSTRACT</b> .....	xviii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	xix
<b>OBJETIVOS</b> .....	xx
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	xx
<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b> .....	xx
<b>HIPÓTESIS</b> .....	xx
<b>HIPÓTESIS ALTERNATIVA</b> .....	xx
<b>HIPÓTESIS NULA</b> .....	xx
<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
<b>1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</b> .....	1
<b>1.1. Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal</b> .....	1
<b>1.1.1. Endocrinología de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)</b> .....	3
<b>1.1.2. Estructura gonadal</b> .....	5
<b>1.1.2.1. Anatomía testicular</b> .....	5
<b>1.1.2.2. Estructura del testículo</b> .....	6
<b>1.1.2.3. Histología testicular</b> .....	7

1.1.3.	La pubertad .....	10
1.2.	Análogos de la GnRH.....	10
1.2.1.	Mecanismo de acción de los análogos de la GnRH .....	11
1.2.2.	Agonistas de la GnRH.....	12
1.2.3.	Antagonistas de la GnRH .....	12
1.2.4.	Gonadotropinas de origen natural.....	14
1.2.4.1.	Gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG) .....	14
1.2.4.1.1.	Origen y composición.....	14
1.2.4.1.2.	Mecanismo de Acción.....	14
1.2.4.1.3.	Datos farmacocinéticos. ....	15
1.3.	La inmuoesterilización.....	15
1.3.1.	Concepto de biológico .....	16
1.3.1.1.	Biológico contra la GnRH.....	19
1.3.1.1.1.	Bacteria Clostridium.....	20
1.3.1.1.1.1.	Descripción general.....	20
1.3.1.1.1.2.	Propiedades bioquímicas. ....	20
1.3.1.1.1.3.	Estructura antigénica y toxinas. ....	20
1.3.1.1.1.4.	Inmunidad.....	21
1.3.1.2.	Adyuvantes del biológico .....	21
1.3.1.2.1.	Adyuvantes Hidróxido de aluminio (alumbre).....	22
1.3.1.3.	Conjugación de materiales portadores para péptido o proteína .	24
1.3.1.4.	Conjugación del péptido GnRH a toxoides.....	24
1.3.2.	Inmunización contra la GnRH.....	25
1.3.3.	Efectos de la aplicación de GnRH en el desarrollo testicular .....	26
<b>CAPÍTULO II.....</b>		<b>27</b>
2.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
2.1.	<b>Características del lugar .....</b>	<b>27</b>
2.1.1.	<b>Situación política .....</b>	<b>27</b>
2.1.2.	<b>Situación geográfica .....</b>	<b>27</b>
2.1.3.	<b>Datos meteorológicos.....</b>	<b>28</b>
2.2.	<b>Materiales.....</b>	<b>28</b>
2.2.1.	<b>Materiales de oficina .....</b>	<b>28</b>

2.2.2.	Recursos tecnológicos.....	28
2.2.3.	Materiales de laboratorio .....	29
2.2.4.	Material biológico.....	29
2.3.	Tipo de investigación.....	29
2.3.1.	Investigación experimental.....	29
2.4.	Métodos .....	30
2.4.1.	Método.....	30
2.4.1.1	Método Inductivo .....	30
2.4.2.	Técnicas .....	30
2.5.	Diseño experimental.....	31
2.5.1.	Diseño completamente al azar.....	31
2.5.2.	Tratamientos.....	32
2.5.3.	Unidad Experimental.....	32
2.6.	Manejo del ensayo .....	33
2.6.1.	Elaboración del biológico anti-GnRH .....	33
2.6.2.	Manejo de instalaciones .....	33
2.6.3.	Manejo de los animales .....	33
2.6.4.	Aplicación del biológico anti-GnRH.....	34
2.6.5.	Manejo de variables .....	35
2.6.5.1.	Morfometría Testicular .....	35
2.6.5.2.	Muestras sanguíneas .....	35
2.6.5.3.	Histología testicular.....	36
2.6.5.3.1.	Porcentaje de Espermatogonias y Espermatozoides.....	37
2.6.5.3.1.1.	Porcentaje de espermatogonias.....	37
2.6.5.3.1.2.	Porcentaje de espermatozoides.....	38
2.6.5.3.2.	Identificación de espermatogonias y espermatozoides a nivel histológico.....	38
<b>CAPÍTULO III.....</b>		<b>40</b>
3.	<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE DATOS.....</b>	<b>40</b>
3.1	<b>Niveles de concentración de las hormonas.....</b>	<b>40</b>
3.1.1	<b>Niveles de Concentraciones Hormonales Pre-Experimentación..</b>	<b>40</b>
3.1.1.1.	<b>Hormona FSH.....</b>	<b>41</b>

3.1.1.2.	Hormona Testosterona .....	42
3.1.2	Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación (Primera dosis).....	42
3.1.2.1.	Hormona LH (Primera dosis) .....	43
3.1.2.2.	Hormona FSH (Primera dosis) .....	44
3.1.2.3.	Hormona Testosterona (Primera dosis) .....	44
3.1.3.	Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación (Segunda dosis) .....	45
3.1.3.1.	Hormona LH (Segunda dosis).....	46
3.1.3.2.	Hormona FSH (Segunda dosis).....	46
3.1.3.3.	Hormona Testosterona (Segunda dosis).....	47
3.1.4.	Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación (Tercera dosis) .....	48
3.1.4.1.	Hormona LH (Tercera dosis).....	48
3.1.4.2.	Hormona FSH (Tercera dosis) .....	49
3.1.4.3.	Hormona Testosterona (Tercera dosis).....	49
3.1.5.	Niveles de Concentración Hormonal Post-Experimentación (Cuarta dosis).....	50
3.1.5.1.	Hormona LH (Cuarta dosis) .....	51
3.1.5.2.	Hormona FSH (Cuarta dosis) .....	51
3.1.5.3.	Hormona Testosterona (Cuarta dosis) .....	51
3.2.	Morfometría testicular.....	52
3.2.1.	Mediciones de los testículos Pre-Experimentación.....	52
3.2.1.1.	Largo del testículo derecho cm. ....	52
3.2.1.2.	Largo del testículo Izquierdo cm. ....	53
3.2.1.3.	Ancho del testículo derecho.....	53
3.2.1.4.	Ancho del testículo izquierdo. ....	53
3.2.2.	Medición de los testículos Post-Experimentación (Primera medición).....	54
3.2.2.1.1.	Largo del testículo derecho (primera medición) .....	54
3.2.2.1.2.	Largo del testículo izquierdo (primera medición).....	55
3.2.2.1.3.	Ancho del testículo derecho (primera medición).....	55
3.2.2.1.4.	Ancho del testículo izquierdo (primera medición).....	55

3.2.3.	Medición del testículo Post-Experimentación (Segunda medición)	56
3.2.3.1.	Largo del testículo derecho (Segunda medición)	56
3.2.3.2.	Largo del testículo Izquierdo (Segunda medición)	57
3.2.3.3.	Ancho del testículo derecho (Segunda medición)	57
3.2.3.4.	Ancho del testículo izquierdo (Segunda medición)	58
3.2.4.	Medición de los testículos cm. Post-Experimentación (Tercera medición)	58
3.2.4.1.	Largo del testículo derecho (Tercera medición)	59
3.2.4.2.	Largo del testículo izquierdo (Tercera medición)	60
3.2.4.3.	Ancho del testículo derecho (Tercera medición)	61
3.2.4.4.	Ancho del testículo izquierdo (Tercera medición)	61
3.2.5.	Medición de los testículos cm. Post-Experimentación (Cuarta medición)	62
3.2.5.1.	Largo del testículo derecho (Cuarta medición)	62
3.2.5.2.	Largo del testículo izquierdo (Cuarta medición)	64
3.2.5.3.	Ancho del testículo derecho (Cuarta medición)	65
3.2.5.4.	Ancho del testículo izquierdo (Cuarta medición)	66
3.3.	Pesos del testículo gr. Post-castración quirúrgica	67
3.3.1.	Testículo Derecho	67
3.3.2.	Testículo Izquierdo	68
3.4.	Medición del diámetro de los túbulos seminíferos	69
3.4.1.	Diámetro mayor de los túbulos seminíferos (um).	70
3.4.2.	Diámetro menor de los túbulos seminíferos (um).	71
3.5.	Porcentaje de espermatogonias y espermatozoides a nivel de túbulos seminíferos	72
3.5.1.	Porcentaje de espermatogonias	72
3.5.2.	Porcentaje de espermatozoides a nivel de túbulos seminíferos	73
	CONCLUSIONES	78
	RECOMENDACIONES	80
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
	ANEXOS Y GRÁFICOS	96

## Índice de ilustraciones

<b>Ilustración 1. Esquema de la estructura de la hormona GnRH .....</b>	<b>3</b>
<b>Ilustración 2. Esquema Estructura del Testículo .....</b>	<b>7</b>
<b>Ilustración 3. Espermiogénesis.....</b>	<b>9</b>
<b>Ilustración 4. La evolución de las biológicos: (A) biológico tradicional utilizando todo un patógeno, (B) biológico de subunidad a base de proteínas, y (C) biológico de subunidad basada en péptidos. ....</b>	<b>17</b>
<b>Ilustración 5. Visión general esquemática de la cascada inmunológica inducida por adyuvantes. ....</b>	<b>18</b>
<b>Ilustración 6. Corte histológico de túbulos seminíferos .....</b>	<b>26</b>

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1. Células endocrinas y neuroendocrinas, y hormonas principales que participan en los procesos reproductivos .....</b>	<b>2</b>
<b>Cuadro 2. Secuencia de aminoácidos de los análogos de la GnRH .....</b>	<b>11</b>
<b>Cuadro 3. Activación de los componentes del sistema inmune innata y adaptativa por grandes adyuvantes.....</b>	<b>22</b>
<b>Cuadro 4. ESQUEMA DEL ADEVA .....</b>	<b>32</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml</b> .....	40
<b>Tabla 2. ADEVA para LH ng/ml</b> .....	41
<b>Tabla 3. ADEVA para FSH ng/ml</b> .....	41
<b>Tabla 4. ADEVA para Testosterona ng/ml</b> .....	42
<b>Tabla 5. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml</b> .....	42
<b>Tabla 6. ADEVA para LH ng/ml</b> .....	43
<b>Tabla 7. ADEVA para FSH ng/ml</b> .....	44
<b>Tabla 8. ADEVA para Testosterona ng/ml</b> .....	44
<b>Tabla 9. Prueba Duncan al 5% para Testosterona ng/ml</b> .....	44
<b>Tabla 10. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml</b> .....	45
<b>Tabla 11. ADEVA para LH ng/ml</b> .....	46
<b>Tabla 12. ADEVA para FSH ng/ml</b> .....	46
<b>Tabla 13. Prueba Duncan al 5% para FSH ng/ml</b> .....	47
<b>Tabla 14. ADEVA para Testosterona ng/ml</b> .....	47
<b>Tabla 15. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml</b> .....	48
<b>Tabla 16. ADEVA para LH ng/ml</b> .....	48
<b>Tabla 17. ADEVA para FSH ng/ml</b> .....	49
<b>Tabla 18. ADEVA para Testosterona ng/ml</b> .....	49
<b>Tabla 19. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml</b> .....	50
<b>Tabla 20. ADEVA para LH ng/ml</b> .....	51
<b>Tabla 21. ADEVA para FSH ng/ml</b> .....	51
<b>Tabla 22. ADEVA para Testosterona ng/ml</b> .....	51
<b>Tabla 23. Mediciones testiculares cm.</b> .....	52
<b>Tabla 24. ADEVA para el largo del testículo derecho</b> .....	52
<b>Tabla 25. ADEVA para largo del testículo izquierdo</b> .....	53
<b>Tabla 26. ADEVA para el ancho del testículo derecho.</b> .....	53

<b>Tabla 27. ADEVA para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 28. Mediciones testiculares cm. ....</b>	<b>54</b>
<b>Tabla 29. ADEVA para el largo del testículo derecho.....</b>	<b>54</b>
<b>Tabla 30. ADEVA para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>55</b>
<b>Tabla 31. ADEVA para el ancho del testículo derecho. ....</b>	<b>55</b>
<b>Tabla 32. ADEVA para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>55</b>
<b>Tabla 33. Mediciones testiculares cm. ....</b>	<b>56</b>
<b>Tabla 34. ADEVA para el largo del testículo derecho.....</b>	<b>56</b>
<b>Tabla 35. ADEVA para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 36. ADEVA para el ancho del testículo derecho. ....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 37. ADEVA para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 38. Mediciones testiculares cm. ....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 39. ADEVA para largo del testículo derecho.....</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 40. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo derecho.....</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 41. ADEVA para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>60</b>
<b>Tabla 42. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>60</b>
<b>Tabla 43. ADEVA para el ancho del testículo derecho. ....</b>	<b>61</b>
<b>Tabla 44. ADEVA para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>61</b>
<b>Tabla 45. Mediciones testiculares cm. ....</b>	<b>62</b>
<b>Tabla 46. ADEVA para el largo del testículo derecho.....</b>	<b>62</b>
<b>Tabla 47. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo derecho.....</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 48. ADEVA para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>64</b>
<b>Tabla 49. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo izquierdo.....</b>	<b>64</b>
<b>Tabla 50. ADEVA para el ancho del testículo derecho. ....</b>	<b>65</b>
<b>Tabla 51. Prueba Duncan al 5% para ancho del testículo derecho.....</b>	<b>65</b>
<b>Tabla 52. ADEVA para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>66</b>
<b>Tabla 53. Prueba Duncan al 5% para ancho del testículo izquierdo.....</b>	<b>66</b>

<b>Tabla 54. Pesos del testículo derecho gr.....</b>	<b>67</b>
<b>Tabla 55. ADEVA para pesos de los testículos derechos.....</b>	<b>67</b>
<b>Tabla 56. Prueba Duncan al 5% para peso del testículo derecho .....</b>	<b>68</b>
<b>Tabla 57. ADEVA para pesos del testículo izquierdo.....</b>	<b>68</b>
<b>Tabla 58. Prueba Duncan al 5% para peso del testículo izquierdo. ....</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 59. Medición del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos (um).....</b>	<b>69</b>
<b>Tabla 60. ADEVA para el diámetro mayor de los túbulos seminíferos. ....</b>	<b>70</b>
<b>Tabla 61. Prueba de Duncan con significancia al 5% para el diámetro mayor de los túbulos seminíferos .....</b>	<b>70</b>
<b>Tabla 62. ADEVA para el diámetro menor de los túbulos seminíferos. ....</b>	<b>71</b>
<b>Tabla 63. Prueba de Duncan con significancia al 5% para el diámetro menor de los túbulos seminíferos .....</b>	<b>71</b>
<b>Tabla 64. Porcentaje de espermatogonias y espermatozoides .....</b>	<b>72</b>
<b>Tabla 65. ADEVA para espermatogonias.....</b>	<b>72</b>
<b>Tabla 66. ADEVA para el porcentaje de espermatozoides. ....</b>	<b>73</b>
<b>Tabla 67. Prueba de Duncan con significancia al 5% para los espermatozoides. .....</b>	<b>73</b>

## Índice de Anexos

<b>Anexos 1. Placa histológica testigos (10x)</b> .....	96
<b>Anexos 2. Placa histológica del tratamiento 2 (10x)</b> .....	96
<b>Anexos 3. Placa histológica del tratamiento 3 (10x)</b> .....	96
<b>Anexos 4. Placa histológica del tratamiento 4 (10x)</b> .....	96
<b>Anexos 5. Placa histológica del testigo (40x)</b> .....	97
<b>Anexos 6. Placa histológica del tratamiento 2 (40X)</b> .....	97
<b>Anexos 7. Placa histológica del tratamiento 3 (40X)</b> .....	97
<b>Anexos 8. Placa histológica del tratamiento 4 (40X)</b> .....	97
<b>Anexos 9. Perfil Hormonal Pre-Experimentación</b> .....	98
<b>Anexos 10. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Primera Dosis)</b> .....	98
<b>Anexos 11. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Segunda Dosis)</b> .....	98
<b>Anexos 12. Perfil Hormonal Post- Experimentación (Tercera Dosis)</b> .....	98
<b>Anexos 13. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Cuarta Dosis)</b> .....	99
<b>Anexos 14. Resultados del Diámetro Mayor y Menor de los Túbulos Seminíferos</b> .....	99
<b>Anexos 15. Resultados del % de Espermatogonias y Espermatozoides a nivel Histológico</b> .....	99
<b>Anexos 16. Ficha técnica de la biológico anti-GnRH</b> .....	99
<b>Anexos 17. Manejo de Instalaciones</b> .....	100
<b>Anexos 18. Aplicación de la biológico anti-GnRH</b> .....	100
<b>Anexos 19. Toma de muestras sanguíneas</b> .....	100
<b>Anexos 20. Extracción quirúrgica de los testículos</b> .....	101
<b>Anexos 21. Medición de los testículos</b> .....	101
<b>Anexos 22. Conservación de los testículos</b> .....	101

## RESUMEN

La domesticación del conejo (*Lagomorfos*), ha permitido el paso de una reproducción de tipo anual a una de tipo no estacional. Sin embargo, existen parámetros reproductivos a evaluar que nos indican el efecto de fármacos exógenos. El estudio del presente experimento fue evaluar los efectos de la aplicación de análogos o antagonistas de GnRH estableciendo sus componentes como moduladores de inmunosupresión y de la dinámica hormonal, morfometría testicular y su incidencia en la histología gonadal. Se seleccionaron 12 conejos machos neozelandes en edades de 4 meses, que fueron ubicados en cuatro grupos experimentales. De los cuatro tratamientos se obtuvo muestras sanguíneas antes de cada aplicación del biológico anti-GnRH para análisis hormonal de LH, FSH, y testosterona, además de la medición de la morfometría testicular e histología. El tratamiento de los Inmunoesterilizados (T2, T3 y T4) consistió en aplicar a cada uno de los grupos 4 inoculaciones a 3 diferentes dosis (100, 300 y 500ug) del biológico respectivamente por vía subcutánea, con un intervalo de 15 días. Se analizó LH, FSH y Testosterona antes, durante y después de la aplicación del biológico en el grupo de los tratamientos y del grupo control. Además, se recolectaron muestras de tejido gonadal para análisis histopatológico. Para la interpretación de los resultados del experimento se utilizó el análisis estadístico InfoStat versión Windows 15.0, ANDEVA y Duncan al 5 % cuando hay significancia. En relación a la dinámica de concentración de hormonas sexuales masculinas estas presentaron desniveles séricos de LH, FSH, testosterona, y su efecto inmunosupresor mayor se presentó en el T3 y T4 respecto al T2 y T1 o grupo control. Respecto a la morfometría testicular presentaron hipotrofia testicular, demostrando reducción en el diámetro escrotal y testicular, disminución de los pesos, reducción del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos, espermatogonias y ausencia de espermatozoides. Por lo tanto, se concluye que la dosis recomendada para generar inmunocastración es de 300ug a 500ug, con un intervalo de 15 a 21 días. Finalmente se concluye que la aplicación de análogos o antagonistas de la GnRH determina un efecto modulador -inmunosupresor del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal al incidir sobre los niveles de concentración de las hormonas sexuales LH, FSH y testosterona respecto a los receptores proteicos.

**Palabras clave:** lagomorfos, hormonas sexuales, biológico anti-GnRH, morfometría, histología.

## ABSTRACT

The domestication of the Rabbit (Lagomorphs) has allowed the passage of annual reproduction of non-seasonal type type. However, there are reproductive parameters we evaluate indicate the effect of exogenous drugs. The study of this experiment was to evaluate the effects of the application of GnRH analogues or antagonists establishing its components as modulators of immunosuppression and hormonal dynamics, testicular morphometry and its impact on gonadal histology. 12 male rabbits lop aged 4 months, were placed in four experimental groups were selected. Of the four treatments blood samples were obtained before each application of anti-GnRH biological hormonal analysis for LH, FSH, and testosterone, plus testis measurement of morphometry and histology. Treatment of Immuno-sterilized (T2, T3 and T4) consisted of applying to each of the groups 4 inoculations at 3 different doses (100, 300 and 500ug) biological respectively subcutaneously with an interval of 15 days. LH, FSH and testosterone was analyzed before, during and after application of the biological treatment group and the control group. In addition, gonadal tissue samples were collected for histopathologic analysis. statistical analysis InfoStat Windows version 15.0, ANOVA and Duncan 5% was used when significance for the interpretation of the results of the experiment. In relation to the dynamics of concentration of male sex hormones such serum showed different levels of LH, FSH, testosterone, and greater immunosuppressive effect was made in the T3 and T4 compared to T2 and T1 or control group. Regarding the testicular morphometry showed testicular hypotrophy, demonstrating reduction in scrotal and testicular diameter, decreased weights, reduced major and minor diameter of the seminiferous tubules, spermatogonia and absence of sperm. Therefore, it is concluded that the recommended dose is generating immunocastration 500ug 300ug to with a range of 15 to 21 days. Finally it is concluded that the application of analogues or GnRH antagonists -inmunosupresor determines a modulating effect of the hypothalamic-pituitary-gonadal the impact on the concentration levels of sex hormones LH, FSH and testosterone respect to protein receptors axis.

Keywords: lagomorphs, sex hormones, biological anti-GnRH, morphometry, histology.

## INTRODUCCIÓN

Según Fiallos Hugo; 2009 indica que a nivel mundial la producción de conejos está distribuida en los países Europeos, entre los que se destacan Italia, Francia y España; la producción a menor escala es a nivel de Sud América. Así, los reportes han demostrado que la castración quirúrgica ha sido practicada rutinariamente, induciendo altas tasas de mortalidad en varias especies animales, posiblemente por malas prácticas de manejo del operario, generando dolor, traumatismo y frecuentemente hasta la muerte del animal. Además, la castración quirúrgica en muchas ocasiones es realizada sin la utilización de anestesia y analgesia, demostrando una serie de cambios fisiológicos y de comportamiento que son claramente indicativos de dolor y estrés. Por lo tanto, el procedimiento de CQ, según Peña Nely;2006 manifiesta que es la incisión del escroto, extracción de testículos y el corte del cordón espermático induce dolor inmediato seguido de dolor agudo, cutáneo y crónico postquirúrgico, que puede prolongarse hasta por un tiempo de cinco día. Sin embargo en la actualidad, aún existe el constante empleo de varias técnicas de manejo, que se con taponen con la integridad y bienestar del animal; por ello se ha visto la necesidad de buscar nuevas alternativas, menos invasivas, menos traumáticas, como el empleo de análogos o antagonistas de la GnRH, que está unida a una proteína acarreadora. Por lo tanto, el método, que hemos planteado en la presente investigación pretende no generar dolor, estrés, y considerado éticamente viable. Además, de su aplicabilidad a diferentes especies como mamíferos, y en un futuro determinar la probabilidad de ser empleado tanto en animales prepúberes y adultos.

Así, las perspectivas del uso de esta técnica, la conceptúan como innovadora, para contribuir en el desarrollo zotécnico respecto a los conejos (lagomorfos), y posibilitando su empleo como modelo animal experimental, el cual a futuro será extrapolado a otras especies animales (MEDIETA, 2013).

# **OBJETIVOS**

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar los efectos de la aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores de inmunosupresión de hormonas sexuales en lagomorfos.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Establecer los componentes para un biológico a base de análogos o antagonistas de GnRH.
- Determinar la eficiencia del biológico a través de análisis de la morfometría testicular y su incidencia en la histología del testículo.
- Evaluar la dinámica de concentración de hormonas sexuales masculinas.

## **HIPÓTESIS**

### **HIPÓTESIS ALTERNATIVA**

**H1**= La aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores genera inmunosupresión de hormonas sexuales en lagomorfos.

### **HIPÓTESIS NULA**

**H0**= La aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores no genera inmunosupresión de hormonas sexuales en lagomorfos.

# CAPÍTULO I

## 1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 1.1. Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal

La hipófisis también llamada glándula, es una neuroglándula situada en pituitaria se divide en el cerebro intermedio, en ella se da la conexión más importante entre los dos sistemas de regulación, el nervioso y el endocrino. De este modo se distinguen tres partes: un lóbulo anterior denominado adenohipófisis, o parsdistalis; un lóbulo intermedio llamado pars intermedia; y uno posterior denominado neurohipófisis. (CUNNINGHAM, 2008)

Existen conexiones neurales entre el hipotálamo y el lóbulo posterior de la hipófisis a través del tracto hipotalámico-hipofisario y conexiones vasculares entre el hipotálamo y el lóbulo anterior de la hipófisis. La sangre arterial entra en la hipófisis a través de arterias hipofisarias superior e inferior. La superior forma asas capilares en la eminencia media y la pars nervosa. De estos capilares fluye sangre hacia el sistema porta hipotalámico-hipofisario, que empieza y termina en capilares sin pasar a través del corazón. Este flujo sanguíneo le da a la glándula el mecanismo de retroalimentación negativa. (HAFEZ, 2000)

La puesta en marcha y el mantenimiento subsiguiente de la función testicular depende de la adecuada secreción pulsátil de GnRH por parte del gonadostato hipotalámico, que a su vez determina la liberación de las gonadotropinas hipofisarias, FSH y LH, hacia el torrente sanguíneo desde donde alcanzan el testículo. A este nivel, la acción combinada de las gonadotropinas pone en marcha dos funciones básicas: producción

de espermatozoides y síntesis de andrógenos. Ambos procesos, además de estar regulados hormonalmente por el eje, dependen también de una compleja serie de interacciones de tipo autocrino y paracrino entre las células germinales y las células de Sertoli, así como entre las células de Leydig y las células peri-tubulares. (ARCE, y otros, 20006)

La LH actúa sobre las células testiculares de Leydig para estimular la síntesis de andrógenos, principalmente testosterona a partir de colesterol. Testosterona es necesaria para la gametogénesis en los túbulos seminíferos y para la conservación de libido y características sexuales secundaria. La FSH actúa sobre las células de sertoli para estimular la producción de proteínas y nutrientes necesarios para la maduración del espermatozoide. (BRUNTON, y otros, 2012)

La testosterona actúa sobre las células germinales de manera que mantiene la espermatogénesis. La prolactina actual junto con los andrógenos sobre el crecimiento de las glándulas accesorias. (CARAVACA, y otros, 2003)

**Cuadro 1. Células endocrinas y neuroendocrinas, y hormonas principales que participan en los procesos reproductivos**

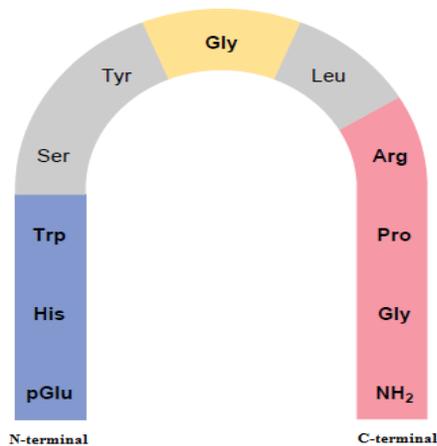
Células	Hormonas	Acción
Células hipotalámicas secretoras de GnRH	GnRH	Estimula la secreción de FSH y LH desde la hipófisis anterior.
Células de la hipófisis anterior	LH	Estimula las células de Leydig para que secreten testosterona
	FSH	En combinación con la testosterona, estimula las células de Sertoli para que sustenten y regulen la espermatogénesis.
Células de Leydig	Testosterona	Necesaria para la mitosis y la meiosis de la espermatogénesis. En combinación con la FSH, estimula las células de Sertoli para que sustenten y regulen la espermatogénesis.
Células de Sertoli	Inhibina	Ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis anterior y el hipotálamo. Inhibe la secreción de FSH. (Las células de Sertoli también secretan productos no hormonales, incluidas sustancias que nutren los espermatozoides en vías de diferenciación, el líquido extracelular que ocupa los túbulos seminíferos y contiene la proteína fijadora de andrógenos y sustancias paracrinas).

FUENTE: HILL, WYSE, ANDERSON, 2006, *Fisiología Animal*

### 1.1.1. Endocrinología de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

La GnRH es el regulador central de la cascada reproductiva hormonal. Es un decapeptido (p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> o p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Trp-Tyr-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>) con estructura similar en todos los animales. En mamíferos, es sintetizada principalmente en el área preóptica del hipotálamo a partir de una preprohormona de 92 aminoácidos. La GnRH es considerada una neurohormona, ya que es una hormona producida en una célula neuronal específica y liberada en su terminal neural. El gen GNRHI, para el precursor de la GnRH, se localiza en el Cromosoma 8 (LÓPEZ, 2009).

**Ilustración 1. Esquema de la estructura de la hormona GnRH**



*FUENTE: REVELO, María, 2014, Efecto modulador de agonistas de GnRH en los procesos de apoptosis en las células de la granulosa del ovario de la gallina doméstica (Gallusgallusdomesticus)*

El extremo amino-terminal (azul) tiene un papel en la activación del receptor, mientras que el extremo carboxi-terminal (rosa) es requerido para la especificidad y la alta afinidad de unión al receptor de GnRH (REVELO, 2014).

A nivel hipofisario la secreción pulsátil de GnRH provoca la liberación de ambas gonadotropinas, pero conforme la respuesta de FSH es rápida, existe un marcado período de latencia de la LH, ya que tiene que promover la síntesis previa de LH a

partir de su correspondiente ARN. En cambio, la administración continua de GnRH produce el fenómeno de desensibilización de sus receptores, con supresión de la liberación de gonadotropinas, no porque se haya agotado su depósito sino por un bloqueo en los mecanismos desencadenados tras la ocupación del receptor. La secreción de GnRH es de carácter pulsátil y está influenciada principalmente por dos sistemas neuroquímico: el  $\alpha$ -adrenérgico, de carácter estimulador, y el opioide, de carácter inhibitor (FLORES, 2008).

La GnRH actúa sobre los receptores hipofisarios de alta afinidad para estimular la producción y liberación de FSH y LH. Se secreta principalmente por neuronas del área preóptica y está constituida por tan solo 10 aminoácidos. La acción sobre la hipófisis se inicia con la fijación a receptores específicos de la superficie celular, el proceso de liberación se activa mediante la movilización del calcio intracelular. Los agonistas adrenérgicos facilitan aparentemente la liberación de GnRH, mientras que los opiáceos endógenos la inhiben, los estrógenos aumentan la cantidad de receptores de GnRH y los andrógenos la reducen. (BRANDAN, 2002)

La forma GnRH-I, es llamada también GnRH hipotalámica y corresponde a la aislada inicialmente en mamíferos, por lo que también se la suele mencionar como mGnRH. Esta primera forma de mamíferos y sus contrapartes en no mamíferos tiene una función predominante en la regulación de la pituitaria. El principal papel de la GnRH-I es estimular las células gonadotropas de la hipófisis para producir hormonas gonadotrofinas. La estructura molecular de la GnRH que originalmente se aisló de mamíferos es pEHWSYGLRPG-NH<sub>2</sub>. (REVELO, 2014)

A nivel gonadal la GnRH tiene capacidad de actuar directamente sobre las células de Leydig en el testículo, porque existen tejidos receptores específicos para dicha hormona. En concentraciones fisiológicas es posible que la GnRH no actúe directamente sobre las gónadas, pero a concentraciones elevadas o mediante agonistas potentes inhibe la acción de la LH sobre la testosterona (FLORES, 2008).

### **1.1.2. Estructura gonadal**

El aparato genital masculino está formado por la: Porción glandular: representada por los dos testículos que se originan en la región lumbar del abdomen y migran hacia la región inguinal. Porción tubular: formada por las vías de recolección y transporte del espermatozoide. Forma las vías espermáticas. Los órganos son: Epidídimo y conducto deferente. Porción uro-genital: Constituido por un conducto largo e impar denominado uretra con sus glándulas anexas, formaciones eréctiles y el pene. Además es importante mencionar el descenso testicular que es la migración por la cual cada gónada masculina, desarrollada en la región lumbar abandona el abdomen, pasa por el espacio o conducto inguinal y se sitúan dentro de las envolturas que hacen relieve sobre la región inguinal o sobre el perineo inguinal o sobre el perineo, en el conejo, el canal inguinal y en particular el anillo interno se mantiene siempre abierto y sus envolturas testiculares poseen formaciones musculares desarrolladas que pueden enviar al testículo hacia el interior del abdomen (GHEZZI, 2004).

Desempeñan una doble función de la producción de células germinales (gametogénesis) y la secreción de hormonas gonadales. Las células intersticiales que se localizan entre los túbulos seminíferos se llaman células de Leydig. Estas últimas secretan testosterona en el macho. (HAFEZ, 2000)

#### **1.1.2.1. Anatomía testicular**

El testículo es un órgano de localización bilateral, se desarrolla a ambos lados en la región lumbar, medial al riñón embrionario, a partir de la cresta gonadal. Desde esta situación intraabdominal, el testículo se desplaza hasta las bolsas escrotales situadas en el exterior de la cavidad abdominal. Mediante el desplazamiento de los testículos a las bolsas escrotales, se logra disminuir algunos grados la temperatura del órgano. Lo cual es necesario para el correcto desarrollo las células germinales masculinas. El responsable del descenso testicular es el ligamento conductor o gubernaculum del testículo. Como el testículo, el gubernaculum discurre por el interior del proceso

vaginal y mediante un aumento de diámetro de su porción distal, produce un ensanchamiento del espacio inguinal, y su acortamiento, introduce el testículo en las bolsas escrotales (KÖNIG, y otros, 2011).

#### **1.1.2.2. Estructura del testículo.**

Los testículos están rodeados por una firme cápsula de tejido Conectivo, la túnica albugínea, que tiene 1-2 mm de espesor, está compuesta por fibras de colágeno. En la túnica albugínea discurren en forma específica según el tipo de animal los grandes vasos sanguíneos del testículo (arteria y vena testiculares). Por afuera del Testículo se encuentra la hoja visceral del proceso vaginal del peritoneo o epiorquio como una cubierta serosa de una sola capa. La túnica albugínea mantiene bajo presión el parénquima testicular de modo que los agrandamientos de volumen, por ejemplo en caso de inflamación, originan grandes dolores. Las partes de tejido conectivo del testículo pueden subdividirse desde afuera hacia adentro en: Cápsula de tejido conectivo (túnica albugínea), Septos tejido conectivo (septos del testículo) y Cuerpo de tejido conectivo (mediastino del testículo) (CARAVACA, y otros, 2003).

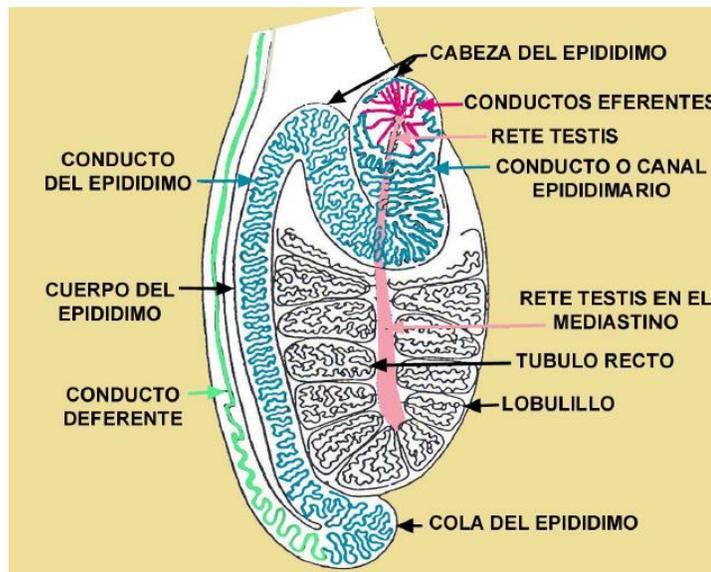
Desde la cápsula irradian hacia el interior del testículo pequeños tabiques de tejido conectivo, los septos del testículo, que dividen el parénquima testicular en lobulillos de forma piramidal. Estos tabiques de tejido conectivo se unen entre sí en el eje testicular, o algo desplazados en dirección al epidídimo, para formar el mediastino del testículo. El parénquima testicular incluye: Túbulos seminíferos contorneados, Túbulos seminíferos rectos y Red del testículo con conductillos eferentes (DYCE, y otros, 2007).

Cada lobulillo testicular contiene entre dos y cinco canalículos testiculares contorneados que tienen a su cargo la formación de las células germinales masculinas. La pared de estos canalículos testiculares contiene células de sostén (células de Sertoli) y células del epitelio germinativo, estas últimas durante la espermatogénesis se diferencian desde espermátides de la fase acrosómica, de la fase de Golgi y de la fase de maduración, hasta convertirse en espermatozoides. Las

funciones de las células de sostén consisten en producir diferentes proteínas que dirigen la espermatogénesis, nutrir las células en diversos estadios de diferenciación, fagocitar gotitas citoplasmáticas y también liberar las espermátides maduras a la luz tubular (ASPINALL, y otros, 2004).

Los túbulos seminíferos contorneados discurren en asas fuertemente enrolladas cuyas terminaciones en línea recta, los túbulos seminíferos rectos, se introducen en la red del testículo. La red del testículo se encuentra en el mediastino del testículo. En el intersticio, entre los túbulos seminíferos, se encuentran células intermedias de Leydig, las que producen las hormonas sexuales masculinas o andrógenos (testosterona). De la red testicular salen entre 8 y 12 conductos excretores del testículo, densamente enrollados, que perforan la túnica albugínea e ingresan en la cabeza del epidídimo (KÖNIG, y otros, 2011).

### Ilustración 2. Esquema Estructura del Testículo



Fuente: GUEZZI, Marcelo; 2004, Área de Anatomía de los animales domésticos

#### 1.1.2.3. Histología testicular

Son dos órganos de forma oval, tiene función exocrina, que corresponde a la producción de los gametos y función endocrina realizada por dos tipos de células

testiculares, las células de Leydig y las células de Sertoli. Están localizados fuera de la cavidad peritoneal y contenidos en el escroto, lo cual permite que la temperatura de los testículos sea un grado menor a la corporal. Dentro del escroto el testículo se encuentra rodeado por la cápsula testicular, la cual está formada por dos capas o túnicas: la más externa es la túnica vaginal, formada por las células mesoteliales derivadas del peritoneo. La capa interna corresponde a la túnica albugínea y está formada por tejido conjuntivo fibroelástico denso y algunas células musculares lisas. Dentro de la túnica albugínea se localiza un estrato o capa vascular. La túnica albugínea se proyecta al interior del órgano, formando al mediastino testicular; en esta zona se localizan vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y los conductos intratesticulares (FORTOUL, 2013).

Cada lobulillo contiene de uno a cuatro túbulos seminíferos muy contorneados, cuya función es producir espermatozoides. La superficie luminal de cada tubo seminífero está tapizada por un epitelio seminífero de varias capas celulares de espesor. Las células basales de este epitelio son las células de Sertoli y los espermatogonios. Estos últimos se dividen por mitosis para replicarse y para producir espermátocitos primarios (diploides). (GARTNER, y otros, 2008)

Los espermatogonios existen desde el principio de la vida fetal al iniciarse la pubertad ya se distinguen tres tipos de espermatogonios: A, intermedios y B. el tipo A tiene propiedades de perpetuarse así mismo, tantas veces como se divide en mitosis. El tipo A es más grande, poco numeroso y tiene un núcleo pálido con gránulos. El tipo B es más pequeño, más numeroso y posee un núcleo oscuro con masas de cromatina gruesas. (FORTOUL, 2010)

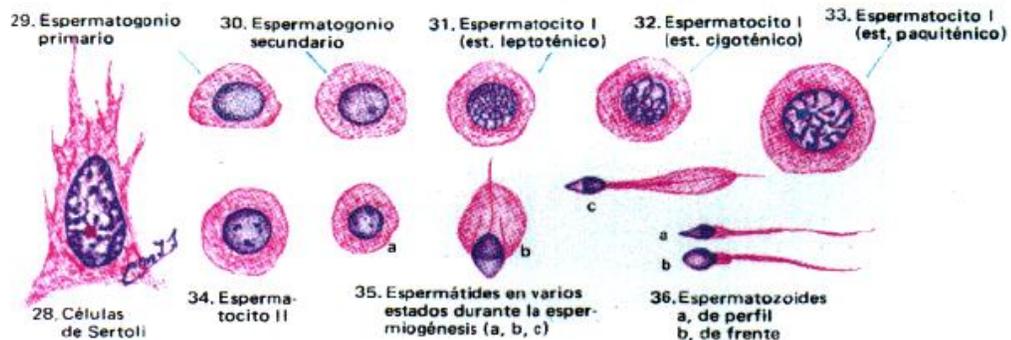
Los espermátocitos primarios son muy similares a los espermatogonios B, sufren transformaciones múltiples que corresponden a los movimientos de la cromatina y los cromosomas, preparatorios de la meiosis. La meiosis es una forma especial de división celular en la cual el núcleo se divide dos veces mientras que los cromosomas se dividen una sola vez. Estas células (espermátocitos secundarios) poseen por lo

tanto el llamado número haploide o gamético de cromosomas (WELSCH, y otros, 2013).

La transformación de las espermatides tanto en su parte nuclear como en su parte citoplasmica, forman una metamorfosis espectacular que termina con la liberación de una célula viva, independiente y con movimiento propio: el espermatozoide: el núcleo de la espermatide al principio todavía es claro se condensa cada vez más y migra hacia la periferia. El aparato de Golgi se desplaza entre la membrana celular y el núcleo y por ultimo forma una vesícula, el acrosoma (GARTNER, y otros, 2007).

EL espermatozoide tiene la cabeza aplanada y mide 55 micras de largo en total; está formada por un núcleo y el acrosoma, la cola tiene cuatro regiones: cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal (ALBA, 2000).

### Ilustración 3. Espermiogénesis



Coloración: hematoxilina-eosina. 300 y 1000 X.

Fuente: DI FIORE; 2004, Nuevo Atlas de Histología normal

Las células en diferenciación están sustentadas por las células de Sertoli, que tiene como función el sostén y nutrición para las células germinales. Además, las zonulae ocludentes entre las células de Sertoli establecen una barrera hematotesticular que protege las células germinativas en desarrollo de los fenómenos auto-inmunitarios. El epitelio seminífero está apoyado sobre una membrana basal que a su alrededor tiene una túnica propia fibromuscular. El tejido conjuntivo que rodea los túbulos

seminíferos contiene pequeños cúmulos de células endocrinas productoras de andrógenos, las células intersticiales de Leydig. Estas células producen la hormona sexual masculina testosterona. (WELSCH, y otros, 2010).

### **1.1.3. La pubertad**

La espermatogénesis comienza entre los 40 y 50 días. Los conductos testiculares son activos hacia los 84 días. Los primeros espermatozoides aparecen en la eyaculación hacia los 110 días. La madurez sexual, definida como el momento en que la producción cotidiana de espermatozoides no aumenta ya más, se alcanza a las 32 semanas. En cambio, en las mismas condiciones, un macho joven puede utilizarse para las reproducciones a partir de la edad de 20 semanas. En efecto, las primeras manifestaciones de comportamiento sexual aparecen hacia los 60 a 70 días; el conejo joven comienza entonces a hacer tentativas de monta. Los primeros coitos pueden tener lugar hacia los 100 días pero, en estas primeras eyaculaciones, la viabilidad de los espermatozoides es escasa o nula. Por lo tanto, es preciso esperar de 135 a 140 días para los primeros apareamientos (RODRÍGUEZ, 2000).

## **1.2. Análogos de la GnRH**

Los análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) tienen capacidad de unirse con mayor afinidad al receptor de GnRH de forma que producen una supresión hipofisaria tras un aumento inicial en la liberación de gonadotropinas (Flare up). (BLASCO, y otros, 2011)

La sustitución de un solo aminoácido de cadena polipeptídica puede cambiar la afinidad y la actividad de la molécula GnRH formando una agonista, a través de las modificaciones de la cadena lateral que interactúa con el sitio de unión del receptor y / o cambio estructural en la conformación del péptido. (ABREU, y otros, 2006)

Es posible que dicha hormona tenga una participación clave, junto con los estrógenos, a progesterona o la testosterona, en el comportamiento sexual. Asimismo, se ha observado que el efecto de la GnRH a nivel gonadal es inhibitorio; esto es, que la acción directa de esta hormona sobre los ovarios o testículos induce bloqueo de la esteroidogénesis. Se sabe también que las dosis altas de GnRH inducen un efecto refractario del gonadotropo. El efecto inhibitorio de la GnRH a nivel hipofisario y gonadal está siendo utilizado como posible medida anticonceptiva en el ser humano, en el cual se ha demostrado que bloquea la espermatogénesis. (SUMANO, y otros, 2006).

**Cuadro 2. Secuencia de aminoácidos de los análogos de la GnRH**

Secuencia aminoacídica de los análogos de la GnRH										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH <sub>2</sub>
<b>Agonistas</b>										
Buserelina	1	2	3	4	5	D-Ser	7	8	9	Etilamida
Goserelina	1	2	3	4	5	D-Ser	7	8	9	AzaGly
Leuprolide	1	2	3	4	5	D-Leu	7	8	9	Etilamida
Triptorelina	1	2	3	4	5	D-Trp	7	8	9	Gly-NH <sub>2</sub>
Histerelina	1	2	3	4	5	D-His	7	8	9	AzaGly
Nafarelina	1	2	3	4	5	D-Nal	7	8	9	Gly-NH <sub>2</sub>
<b>Antagonistas</b>										
Cetrorelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	5	D-Cit	7	8	9	D-Ala
Nal-Glu	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	Arg	D-Glu	7	8	9	D-Ala
Antide	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	NicLys	D-NicLys	7	Lys(iPr)	9	D-Ala
Ganirelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	5	D-hArg	7	hArg	9	D-Ala
Azaline-B	D-Nal	D-Phe	D-Phe	4	Phe	D-Phe	7	Lys(iPr)	9	D-Ala
Antarelix	D-Nal	D-Phe	D-Pal	4	Phe	D-Hcit	7	Lys (iPr)	9	D-Ala

*Fuente: MATORRAS, P.J; Hernández. D. Molero, 2008, Tratado de reproducción humana de enfermería*

### 1.2.1. Mecanismo de acción de los análogos de la GnRH

Su modo de acción se basa en la unión a los receptores de esta hormona en la hipófisis induciendo a la liberación de grandes cantidades de hormonas FSH y luteinizante LH, lo cual se conoce como efecto flare-up, así como un aumento en el

número de receptores de GnRH conocido como up-regulation. Sin embargo, tras 7-14 días de exposición se produce una desensibilización hipofisaria dada por la internalización del complejo agonista de GnRH-receptor de GnRH lo que desencadena un descenso del número de receptores de GnRH conocido como down-regulation. (BARROS, 2014)

### **1.2.2. Agonistas de la GnRH**

Un agonista es un fármaco que se combina con un receptor e inicia una secuencia de eventos que conducen a una respuesta. Un agonista parcial actúa a nivel del receptor pero produce un efecto inferior máximo. Un agonista parcial que ocupa una fracción significativa de la población de receptores disponible antagonizara la acción del agonista (MADDISON, y otros, 2004).

Los Agonistas de GnRH tienen relativamente algunas modificaciones en comparación con la GnRH nativa. Básicamente, se realizan los cambios de la glicina a posición 6 y en la glicina-carboxiterminal en posición 10. La modificación en la posición 6 incrementa la vida media de la molécula, pues está en la posición de división por peptidasas, produce la degradación en la circulación sanguínea. Las modificaciones en la posición 10 aumenta la afinidad del receptor 100-200 veces en comparación a la GnRH nativa (ABREU, y otros, 2006).

### **1.2.3. Antagonistas de la GnRH**

Un antagonista interactúa con un receptor para inhibir a acción del agonista sin desencadenar ningún efecto por sí mismo. Los antagonistas pueden ser competitivos y no competitivos: los efectos de un antagonista competitivo se puede superar incrementando la dosis del fármaco; por lo tanto, el antagonista tiene una acción reversible a nivel del receptor. El efecto de un antagonista no competitivo no puede ser superado por completo de manera independiente a la dosis, debido a la unión

irreversible del antagonista con el receptor (pero al cual el agonista no se une) que impide el inicio del efecto (MADDISON, y otros, 2004).

Los antagonistas de la GnRH actúan bloqueando el receptor de GnRH, produciendo una supresión rápida y profunda y evitando el efecto flare up. (BLASCO, y otros, 2011).

Los antagonistas actúan compitiendo directamente por el receptor de la GnRH, uniéndose a él y bloqueándolo, ocasionando una inmediata y profunda supresión de la secreción de gonadotrofinas. Este mecanismo de acción depende del equilibrio entre la GnRH endógena y el antagonista administrado. Este efecto antagónico es dosis dependiente. Los agonistas de la GnRH, luego de un efecto estimulante inicial sobre la hipófisis (flare-up), inducen una desensibilización de las células gonadotropas mediante la reducción del número de receptores de la GnRH en la membrana celular (down-regulation), suprimiendo la secreción de gonadotrofinas. La recuperación de la función pituitaria ocurre más rápidamente después del uso de antagonistas que de agonistas del GnRH. (LIMA, y otros, 2008)

Los antagonistas de la GnRH ofrecen varias ventajas potenciales sobre los agonistas. En primer lugar, la duración del tratamiento con un antagonista es más corta que con un agonista. Dado que su única finalidad es prevenir un pico prematuro de LH endógena y que sus efectos son inmediatos, el tratamiento con antagonistas puede posponerse hasta un momento más avanzado del desarrollo folicular (después de 5-7 días de estimulación con gonadotropinas) (LÓPEZ, 2008).

El principal efecto de las gonadotrofinas es promover la gametogénesis o, en su defecto, la producción de esferoides sexuales. En el testículo los receptores de LH/hCG se encuentran únicamente en las células de Leydig (BARZALLO, 2013).

## **1.2.4. Gonadotropinas de origen natural**

### **1.2.4.1. Gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG)**

#### **1.2.4.1.1. Origen y composición.**

La Gonadotropina sérica de suero de yeguas gestantes (PMSG), hormona placentaria, es secretada en las copas endometriales que se han formado alrededor del día 40 en las yeguas gestantes; es una hormona glicoproteica con un peso molecular aproximadamente de 70.000 Daltons, por lo que no aparece en la orina y circula en la sangre; contiene subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH pero con mayor contenido de carbohidratos (45% de su masa), especialmente ácido siálico, hecho que le confiere características propias desde el punto de vista farmacocinético, como una vida media prolongada que favorece su uso en una sola dosis (GARNICA, 2012).

#### **1.2.4.1.2. Mecanismo de Acción.**

En las hembras, la PMSG estimula el crecimiento y la maduración de los folículos. En el macho, la PMSG estimula el desarrollo del tejido intersticial del testículo y la espermatogénesis. La LH induce un incremento en los niveles de semen producidos a través de la estimulación de la producción del plasma seminal, y estimula la capacidad de movimiento del espermatozoide a través de un ascenso del pH en el plasma seminal. La gonadotropina sérica equina (PMSG) es una glicoproteína de gran tamaño compuestas por dos subunidades (alfa y beta) unidas por enlaces no covalentes. PMSG tiene actividad dual, folículoestimulante (similar a la hormona FSH) y luteinizante (similar a la hormona LH); por tanto, estimula el crecimiento y la maduración folicular durante los días anteriores al celo y la ovulación. HCG muestra

tan sólo actividad tipo LH; induciendo la ovulación de los folículos desarrollados por la PMSG (AUQUILLA, y otros, 2013).

#### **1.2.4.1.3. Datos farmacocinéticos.**

La gonadotropina sérica equina se absorbe lentamente tras su administración intramuscular en cerdos, alcanzando las concentraciones plasmáticas máximas entre las 8 y las 24 horas después de la misma. Se ha calculado una biodisponibilidad por esta vía del 71%. Presenta una cinética que se ajusta a un modelo bicompartimental, con una primera fase de distribución-eliminación rápida y una segunda más lenta. La semivida de eliminación es de alrededor de 35 horas. Se acumula fundamentalmente en el hígado, donde sufre metabolismo, originándose péptidos inactivos. La gonadotropina coriónica alcanza la concentración plasmática máxima entre 6 y 8 horas después de la administración intramuscular, decreciendo después de forma bifásica. La biodisponibilidad por vía intramuscular es del 78%, la excreción tiene lugar en la orina (HAFEZ, 2000).

Posee una actividad de FSH y LH con una semivida de 40 horas y que persiste durante aproximadamente 10 días (SAGBAY, 2012).

Se obtiene del suero de Yegua preñada durante la primera mitad de la gestación. Si hay necesidad de un efecto foliculoestimulante exclusivo, se puede conseguir hormona foliculoestimulante preparada (FSH-P) a partir de la adenohipófisis de animales de rastro. Esta última forma sólo se utiliza experimentalmente (SUMANO, y otros, 2006).

### **1.3. La inmuoesterilización**

La inmunocastración es un método menos engorroso, no doloroso, éticamente viable, aplicable a mamíferos de ambos sexos y reversible con el tiempo en animales

prepúberes y adultos. Otra alternativa publicada para la castración de animales es el uso de análogos de GnRH. En ratas se publicó la evaluación de un biológico anti-GnRH para el control de la fertilidad y para tratar de eliminarlas mediante la esterilización de al menos el 70% de la población de ambos sexos en tres generaciones consecutivas (BASULTO, y otros, 2003).

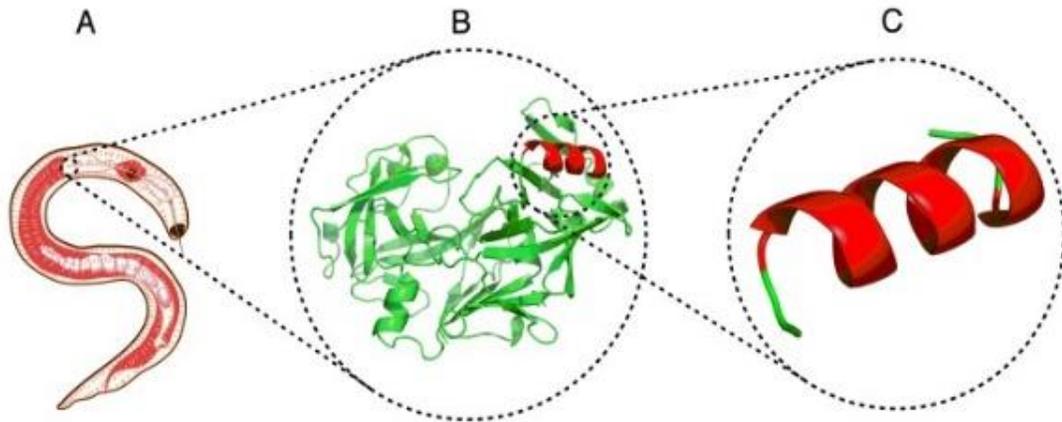
La técnica de inmuoesterilización ha sido utilizado con seguridad y eficacia en varias especies domésticas y salvajes, incluyendo el venado cola blanca, y los cerdos domésticos asilvestrados, bovinos, ardillas, ratas, caballos salvajes y domésticos (BENAVIDES, y otros, 2012).

La inmunocastración está reportada como alternativa ventajosa en los animales de importancia económica, por mejorar el comportamiento agresivo de los machos, el olor y sabor de la carne, la conversión alimenticia, producirse canales más magras y una reducción en el consumo de alimento, con el uso de péptidos análogos a la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) conjugados con proteínas, con el objetivo de levantar anticuerpos que neutralicen la función de la GnRH (BORROTO, 2008).

### **1.3.1. Concepto de biológico**

En su concepto original, el biológico tiene como objetivo imitar el desarrollo de la inmunidad adquirida de forma natural mediante la inoculación de los componentes no patógenos pero todavía inmunogénicos del patógeno en cuestión, o los organismos están estrechamente relacionados. Los biológicos de bacterianas están disponibles desde hace décadas como profilaxis contra las enfermedades bacterianas en la medicina veterinaria siendo estos vivos, atenuados o inactivados (muertos). (MEEUSEN, y otros, 2007)

**Ilustración 4. La evolución de las biológicos: (A) biológico tradicional utilizando todo un patógeno, (B) biológico de subunidad a base de proteínas, y (C) biológico de subunidad basada en péptidos.**

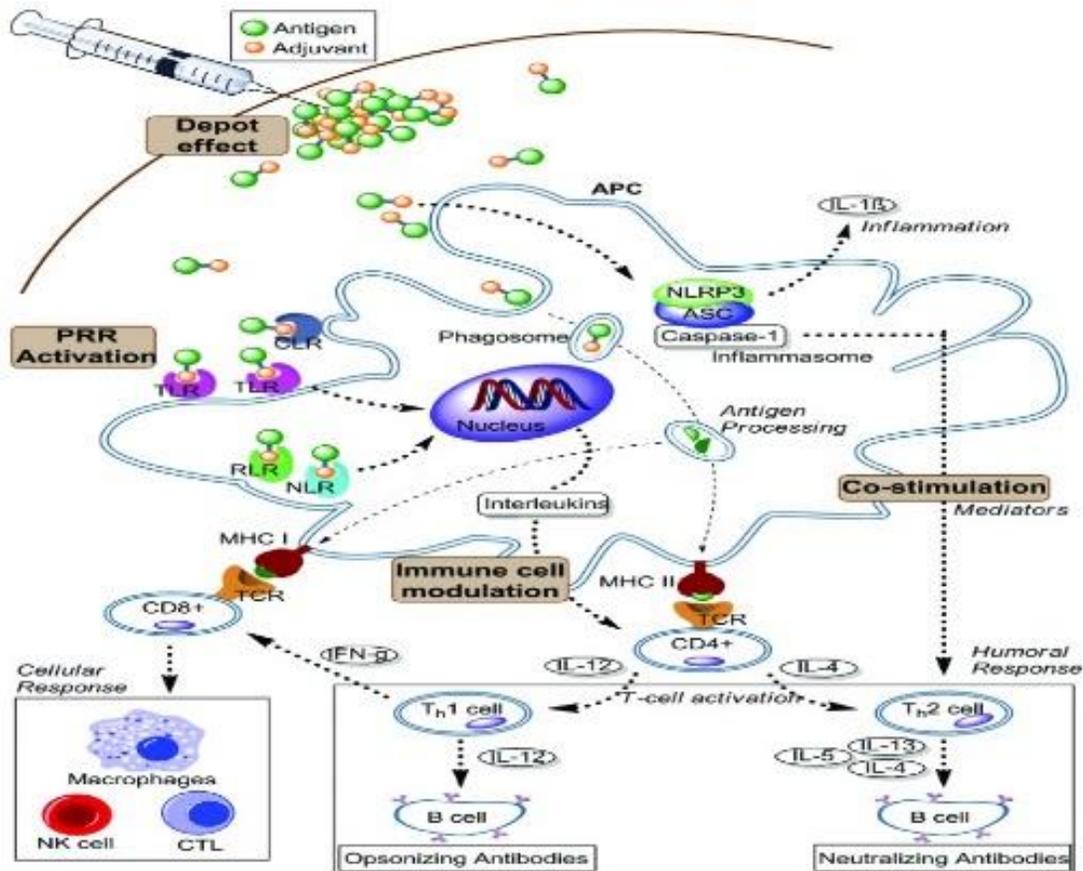


*FUENTE: AZMI; ABDULLAH; SKWARCZYNSKI; ISTVAN, 2013, Hum Vaccin Immunother.*

Biológicos de subunidades basados en péptidos son de gran interés en la inmunoterapia moderna, ya que son seguros, fáciles de producir y bien definido. Sin embargo, los antígenos peptídicos producen una respuesta inmune relativamente débil, y por lo tanto requieren el uso de inmunoestimulantes (adyuvantes) para una eficacia óptima. (AZMI, y otros, 2013)

La elaboración del biológico contra la GnRH se ha desarrollado en las áreas de salud humana y animal, este tipo de biológico ha utilizado toxoides bacterianos, incluyendo toxoides tetánico y diftérico u ovoalbúmina como portadores, a los que los péptidos de los antígenos propios en la mira se conjugan, tienen como objetivo evitar la producción del espermatozoide sin embargo, mantener patrones de comportamiento sexual y la competencia en el apareamiento. (MEEUSEN, y otros, 2007)

**Ilustración 5. Visión general esquemática de la cascada inmunológica inducida por adyuvantes.**



*FUENTE: AZMI; ABDULLAH; SKWARCZYNSKI; ISTVAN, 2013, Hum Vaccin Immunother.*

*Estos eventos inmunológicos son esenciales para mejorar y dirigir la respuesta inmune adaptativa contra antígenos de la biológico. Las respuestas están mediadas principalmente por dos tipos principales de linfocitos, T y células B. (APC: célula presentadora de antígeno; CTL: linfocitos T citotóxicos, células NK: las células asesinas naturales; PRR: receptor de reconocimiento de patrones; TLR: Toll-like receptor; RLR: gen-ácido retinoico inducible I (RIG-I) -como receptor; receptor de NOD-como; MHC: NLR complejo mayor de histocompatibilidad; NLRP3: NOD-como familia de receptores; ASC: El adaptador inflamasoma; TCR: receptor de células T; CLR: receptores de lectina de tipo C). (AZMI, y otros, 2013)*

### **1.3.1.1. Biológico contra la GnRH**

Los estudios indican que las proteínas quiméricas basadas en GnRH, que consta de GnRH y toxinas, como el tétanos toxoide, la difteria toxoide pseudomonas aeruginosa exotoxina, pueden controlar eficazmente la reproducción (LI, y otros, 2008).

Para la castración inmunológica existen biológicos que permite la castración de los machos a través de la creación de anticuerpos contra la GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) a través del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (ROS, 2009).

El biológico consiste en la estimulación de la producción de anticuerpos que neutralizan el factor liberador de las gonadotropinas (GnRF), que es el responsable de regular la función testicular a nivel de hipotálamo. La inmunización se realiza mediante la aplicación de dos dosis, que provoca una supresión de la producción de esteroides como la testosterona y la androsterona, y una disminución de su concentración, además de una reducción del tamaño de los testículos (DUNSHEA, y otros, 2001).

Composición farmacéutica utilizando combinaciones de la hormona GnRH nativa y/o alguno de sus miméticos, unidos indistintamente por sus extremos amino o carboxilo a una molécula portadora, en un caso por su extremo carboxilo y en el otro por su amino terminal, generando una rápida y potente respuesta inmunológica contra la hormona GnRH endógena que conduce finalmente a la ablación de la GnRH y por tanto del resto de las hormonas involucradas en la cascada GnRH/LHFSH/Testosterona-(estrógenos) y facilitando la exposición al sistema inmune de un mayor número de epítopes de la GnRH o sus miméticos y minimizando el impedimento estérico que producen los portadores. Esta invención tiene una aplicación directa en la castración de animales de interés económico y animales mascotas, en el control de la fertilidad en humanos, y en el tratamiento de tumores hormono-sensibles; de próstata, mama, ovario, endometrio, testículo, hipófisis, glándulas salivales y otros tipos de tumores humanos (OMPI, y otros, 2010).

### **1.3.1.1.1. Bacteria Clostridium.**

#### **1.3.1.1.1.1. Descripción general.**

Estos bacilos son de tamaño variable midiendo 0'4 – 1'2 u de diámetro y 3-8 u de longitud. Generalmente son rechonchos, con extremos redondeados, pero algunos aparecen como bacilos largos y delgados. Son Gram-positivos en los cultivos jóvenes, pero se decoloran fácilmente en los envejecidos. Es preferible emplear solamente alcohol como agente decolorante en vez de alcohol-acetona, al hacer la técnica de Gram. En las células de algunas especies se observan granulaciones, que determinan variaciones en la intensidad de la coloración cuando se utiliza azul de metileno (TOTORA, y otros, 2007).

#### **1.3.1.1.1.2. Propiedades bioquímicas.**

EL Clostridium produce ácido y gas de glucosa, fructosa, maltosa, lactosa y sacarosa, pero no del manitol, glicerina, dulcitol, salicina e insulina. Coagula la leche formando un coagulo floculento. El medio con carne se enrojece. Acidifica, pero no ennegrece, la papilla cerebral de Hibler. Produce ligera hemólisis en las placas de agar-sangre. No forma indol. Da reacción negativa al rojo metilo. No reduce los nitratos a nitritos. No forma NH<sub>3</sub>. Produce H<sub>2</sub>S. No reduce el azul de metileno. No forma catalasa (MERCHANT, y otros, 2000) .

#### **1.3.1.1.1.3. Estructura antigénica y toxinas.**

El Clostridium produce una verdadera exotoxina. Algunas cepas indudablemente la producen, especialmente las virulentas. Grassberger y Schattenfroh afirman que han logrado producir medios de cultivo con toxina diftérica, mata a los animales de laboratorio. Han demostrado que esta toxina es termoestable, en condiciones adecuadas puede producir a dosis de 0'025-0'5 ml, inyectada intravenosa al ratón, produce síntomas respiratorios y la muerte en unos minutos. La inyección subcutánea

de la toxina a cobayos y ratones no es mortal, pero produce edema (SWAPAN, y otros, 2007).

#### **1.3.1.1.4. Inmunidad.**

Los animales curados de la enfermedad quedan inmunes para el resto de su vida. El muy joven o muy viejo tiene considerable inmunidad natural. Probablemente sea de naturaleza opsónica en los animales jóvenes, mientras que en los más viejos existe siempre la posibilidad de que hayan padecido una infección subclínica (MERCHANT, y otros, 2000).

#### **1.3.1.2. Adyuvantes del biológico**

El desarrollo de un adyuvante seguro y eficaz sigue siendo un reto para el diseño de los biológicos a base de péptidos. La comprensión de la estructura molecular de los adyuvantes permite el establecimiento de sus relaciones estructura-actividad que es útil para el desarrollo de adyuvantes de próxima generación, los biológicos de subunidades basadas en péptidos pueden disminuir la estimulación de una respuesta autoinmune, ya que contienen un fragmento específico, bien definido y producido sintéticamente de un patógeno. (AZMI, y otros, 2013)

Los adyuvantes son sustancias que en combinación con los antígenos favorecen la estimulación del sistema inmunitario y aumentan la efectividad de los biológicos. La palabra adyuvante proviene del latín adjuvare, que significa “ayudar, asistir (PANEQUE, 2013).

Los biológicos utilizando antígenos específicos con escasa inmunogenicidad como GnRH -I son incapaces de desarrollar una respuesta inmune adaptativa eficaz y requieren la presencia de adyuvantes, esencial para la activación linfocítica. (SAENZ, y otros, 2009)

**Cuadro 3. Activación de los componentes del sistema inmune innata y adaptativa por grandes adyuvantes**

Auxiliar	Mayor inmuoestimulantes componente (s)	activada	estimuladas Principales
Los adyuvantes con licencia			
Alumbre	sales de aluminio	NLRP3 inflamasoma (?)	Ab, Th2 (+ Th1 en los seres humanos)
MF59 y AS03	escualeno en agua emulsiones	inflamación del tejido (no hay receptores definidos)	Ab, Th1 + Th2
AS04	MPL más alumbre	TLR4 y inflamasoma (?)	Ab, Th1
Los adyuvantes de Uso Experimental generalizada o en desarrollo clínico finales de la etapa			
Poli-IC (también poli-I-CLC)	derivados sintéticos de dsRNA	TLR3, MDA5	Ab, Th1, CD8 <sup>+</sup> células T
MPL y formulaciones (AS01, AS02)	MPL y QS-21	TLR4 (MPL),? (QS21)	Ab, Th1
Flagelina, proteínas de fusión flagelina-Ag	Flagelina de <i>S. typhimurium</i>	TLR5	Ab, Th1 + Th2
Imiquimods	derivados imidazoquinolina	TLR7, TLR8 o ambos	Ab, Th1, CD8 <sup>+</sup> células T (cuando se conjuga)
Oligodeoxynuceotides y formulaciones CpG (IC31, QB10)	oligonucleótidos de ADN fosforotioato ligado sintéticos con motivos CpG optimizados	TLR9	Ab, Th1, CD8 <sup>+</sup> células T (cuando se conjuga)
CAF01	dimicolato de trehalosa (factor de cordón)	Mincle	Ab, Th1, Th17
ISCOMS y ISCOMATRIX	saponinas	mecanismo no definido	Ab, Th1 + Th2, CD8 <sup>+</sup> células T
IFA (y Montanide formulaciones)	mineral o aceite de parafina + surfactante	mecanismo no definido	Ab, Th1 + Th2
CFA	IFA + peptidoglicano, dimicolato trehalosa	NLR, inflamasoma, Mincle, TLR?	Ab, Th1, Th17

*FUENTE: COFFMAN, Robert; SHER, Alan; SEDER, Robert A; 2010, Los adyuvantes de Biológicos: Poner inmunidad innata para trabajar.*

### **1.3.1.2.1. Adyuvantes Hidróxido de aluminio (alumbre).**

Los adyuvantes de alumbre clínicamente aprobados constan de precipitados de fosfato de aluminio e hidróxido de aluminio a la que se adsorben antígenos. Aunque tradicionalmente pensado para funcionar principalmente mediante la formación de un depósito de larga duración para el antígeno y promoviendo su absorción por las células presentadoras de antígeno (APC). (COFFMAN, y otros, 2010)

La inyección de este precipitado de alumbre tiene como resultado una liberación más lenta del antígeno del sitio de inyección, de tal manera que aumenta el tiempo eficaz de exposición del antígeno de unos cuantos días. El precipitado de alumbre además incrementa el tamaño del antígeno y por consiguiente la posibilidad de fagocitosis. (GOLDSBY, y otros, 2004)

El hidróxido y el fosfato de aluminio genéricamente llamados Alum, son sales con propiedades físicas diferentes que están disponibles para ser utilizadas en la producción de biológicos para humanos. El fosfato de aluminio o hidroxifosfato, posee un punto isoeléctrico usualmente entre 4.5 y 6.0 relacionado inversamente con el grado de sustitución de fosfatos por hidroxilos; al estar cargado negativamente, a un pH de 7.4, absorbe los antígenos cargados positivamente gracias a fuerzas de atracción electrostática. Por otra parte el hidróxido de aluminio tiene un punto isoeléctrico de 11.4 y a un pH de 7.4 absorbe los antígenos cargados negativamente por atracción electrostática. En general los antígenos del biológico se unen establemente a las sales de aluminio por estas interacciones formando una suspensión macroscópica (FRANCO, y otros, 2004).

Sus trabajos demuestran que cuando se inyecta hidróxido de aluminio en un músculo, las células en circulación, provenientes de la médula ósea, llegan al bazo y activan los linfocitos B, glóbulos blancos que intervienen en la respuesta inmunitaria. Este resultado es capital en la comprensión del funcionamiento del adyuvante alumínico: contrariamente a lo que se pensaba hasta el momento, éste no es completamente eliminado, sino que permanece activo en nuestro cuerpo (FASCIITIS, 2007).

El Alumbre ha sido usado por muchos años en el campo de los biológicos, no obstante, su mecanismo de acción no se conoce en su totalidad. Originalmente se creyó que generaba un efecto de depósito, resultando en la persistencia del antígeno en el sitio de inyección; aunque, estudios más recientes que involucran antígenos marcados con isótopos radioactivos muestran que el Alum no induce la formación de depósitos en el sitio de aplicación; además, el líquido intersticial es capaz de disolver las sales de aluminio in vivo e in vitro después de su administración intramuscular. El

hidroxifosfato exhibe una disolución y una absorción más rápida que los cristales de hidróxido de aluminio (FRANCO, y otros, 2004).

#### **1.3.1.3. Conjugación de materiales portadores para péptido o proteína**

Los nuevos biológicos conjugados estimulan un tipo preciso de células inmunitarias para crear una memoria duradera del agente patógeno: la inmunidad generada por esas células puede entonces ser incrementada por dosis biológicas posteriores o por la exposición al propio agente patógeno. Una vez más, a diferencia de los biológicos más antiguos, se ha demostrado que los biológicos conjugados incluso reducen el número de portadores sanos del agente patógeno en una comunidad, con lo que producen la denominada “inmunidad de rebaño” o colectiva que protege del agente patógeno incluso a las personas no inmunizadas (PANEQUE, 2013).

#### **1.3.1.4. Conjugación del péptido GnRH a toxoides**

La composición farmacéutica caracterizada porque la molécula de GnRH puede estar en forma natural o variantes modificadas de esta, y la molécula portadora de la GnRH puede ser el toxoide tetánico entre otras (BARRANCO, 2010).

Fragmentos de ADN que codifican múltiples repeticiones de la auto-péptido se generaron por una nueva técnica, denominada reacción en cadena de la polimerasa plantilla-repetida (TR-PCR), que podría ser subclonado en un vector de expresión para la producción de repeticiones de péptidos como un inmunógeno. (CHIA, y otros, 2000)

De acuerdo con la presente invención se proporciona una proteína quimérica que comprende un polipéptido de leucotoxina fusionado con el primero y segundo multímeros, en donde el C-terminal del primer multímero se fusiona al N-terminal del polipéptido de leucotoxina y el N-terminal del segundo multímero se fusiona al C-terminal del polipéptido de leucotoxina. La presente invención se dirige a una proteína quimérica que comprende un polipéptido de leucotoxina fusionado a uno o

más multímeros en donde cada multímero comprende más de un polipéptido GnRH seleccionado. La porción de leucotoxina de la quimera actúa para incrementar la inmunogenicidad de los polipéptidos GnRH. Más particularmente, los multímeros usados aquí pueden corresponder a más de una copia de un polipéptido GnRH seleccionado o epítotope, o múltiples repeticiones en tándems de un polipéptido GnRH seleccionado o epítotope. Además, multímeros GnRH se pueden localizar en los extremos carboxilo y/o amino terminal del polipéptido de la leucotoxina, a sitios internos al polipéptido de la leucotoxina, o alguna combinación de tales sitios. Se proporciona una proteína quimérica que comprende un polipéptido de leucotoxina fusionado a dos multímeros de la GnRH (POTTER, y otros, 2006).

### **1.3.2. Inmunización contra la GnRH**

Los nuevos biológicos conjugados estimulan un tipo preciso de células inmunitarias para crear una memoria duradera del agente patógeno: la inmunidad generada por esas células puede entonces ser incrementada por dosis biológicas posteriores o por la exposición al propio agente patógeno. (OMS, 2010)

Los anticuerpos que surgen en respuesta a la inmunización con GnRH sintética, neutralizan a la GnRH endógena, ya que este biológico bloquea el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, lo que resulta en infertilidad tanto en hembras como en machos, por lo que puede ser usada como una alternativa para la castración y el control de la fertilidad (LÓPEZ, 2009).

El biológico estimula la producción de anticuerpos anti-GnRH que se unen a la GnRH endógena y previenen las moléculas de unión a los receptores en las gonadotropas pituitarias. Como consecuencia de la liberación de las hormonas gonadotropinas LH y FSH se reduce lo que se traduce en la baja regulación de la espermatogénesis y el fracaso del desarrollo folicular y la ovulación. Esto conduce a la regresión gonadal y la supresión del comportamiento sexual en animales tratados, vuelven a un estado prepuberal. (BENAVIDES, y otros, 2012)

### 1.3.3. Efectos de la aplicación de GnRH en el desarrollo testicular

La inmunización activa contra la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) altera el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, lo cual inhibe la función de las células de Leydig y dilatatoria / suprimir el desarrollo sexual de los testículos y la síntesis de esteroides. La inmunización contra la GnRH reduce las concentraciones de hormonas testosterona testicular, el tamaño testicular y peso, así como el diámetro de los túbulos seminíferos de testículos, el número de espermatozoides y el comportamiento agresivo en los jóvenes y adultos. (BILSKIS, y otros, 2012)

#### Ilustración 6. Corte histológico de túbulos seminíferos



**FUENTE:** ADAGIO, L.M.; Rio, F.J., Hierro, J.A, Lattanzi, L.D., García, M.G., Torres, P., Menguelle, P., Meder, A., Vaquero, P., Wheeler, J.T., Corrada, Y., Gobello, C., 2013, *Revista Ciencias Veterinarias*

*Corte histológico de túbulos seminíferos (375 µg/kg; H&E 400x). Se observa disminución de los elementos celulares del epitelio seminal: espermatozoides (E) y células de Leydig (L). (ADAGIO, y otros, 2013)*

Los estudios histológicos y inmunohistoquímico realizados en testículos y epidídimos mostraron claros signos de atrofia en los animales inmunizados. Microscópicamente, el diámetro medio de los túbulos seminíferos se redujo notablemente. Espermatogonias, así como unos espermatozoides eran visibles entre las células de Sertoli y las células de Leydig eran atroficas. Ninguno o muy pocos espermatozoides se detectaron en el epidídimo. Las glándulas bulbouretrales de cerdos inmunocastrados eran más pequeños que en los cerdos de control y mostraron evidencia histológica de la atrofia. (HILBE, y otros, 2006)

## CAPÍTULO II

En el presente capítulo se detalla la metodología y materiales que se utilizó para realizar la investigación, además se describe las características y ubicación del lugar de realización del experimento.

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Características del lugar

##### 2.1.1. Situación política

- **Provincia:** Tungurahua
- **Cantón:** Ambato
- **Parroquia:** Picaihua
- **Calle:** Av. Pitágoras y Carlos Marx

##### 2.1.2. Situación geográfica

- **Latitud:** S 1°15'30.35"
- **Longitud:** W 78° 38'20.96"
- **Altitud:** 2707 m.s.n.m.
- **Temperatura:** 14-22 °C

*FUENTE: Corporación Nacional de Telecomunicaciones-ep, Ministerio del Ambiente, Tungurahua, 2012*

### **2.1.3. Datos meteorológicos**

- **Temperatura promedio:** 14.9 °C
- **Pluviosidad:** 542,8 mm (anuales)
- **Horas luz/ día:** 12 horas
- **Viento:** 4,8 m/s sur – este
- **Nubosidad anual:** 6/8

*FUENTE: López Luis, Tesis de Ingeniería Ambiental, 2011*

## **2.2. Materiales**

### **2.2.1. Materiales de oficina**

- Libreta.
- Esferográficos.
- Resma de hojas.
- Anillados.
- Papel bond.
- Copias.
- Impresiones.
- Empastados.

### **2.2.2. Recursos tecnológicos**

- Calculadora.
- Cámara fotográfica.
- Internet.
- Computadora.

### **2.2.3. Materiales de laboratorio**

- Guantes®.
- Cofia®.
- Mascarilla®.
- Jeringuillas®.
- Bisturí®.
- Recipientes de muestra®.
- Tubos vacutainer® Tapa Roja.
- Exámenes de Hormona Folículo Estimulante.
- Exámenes de Hormona Luteinizante.
- Exámenes de Testosterona.
- Análisis histopatológicos de los testículos.

### **2.2.4. Material biológico**

- Muestras de sangre.
- Muestras de tejido testicular.
- Biológico anti-GnRH.
- Desparasitantes.
- Desinfectantes.
- Formol.

## **2.3. Tipo de investigación**

### **2.3.1. Investigación experimental**

Es aquella que se efectúa sobre un tema u objeto desconocido o poco estudiado, por lo que sus resultados constituyen una visión aproximada de dicho objeto, es decir, un nivel superficial de conocimiento. (JAUSET, 2000)

El presente estudio es netamente experimental, ya que se influyó sobre las variables dependientes a través de la variable independiente. Por lo tanto, se comprobó que los análogos sintéticos de las GnRH conjugada con la proteína y toxina del clostridium provocaron inmunosupresión de las hormonas sexuales, además de causar disminución en las estructuras del testículo en los lagomorfos.

## **2.4. Métodos**

### **2.4.1. Método**

#### **2.4.1.1 Método Inductivo**

El Método inductivo va de lo particular a lo general. Empleamos el método inductivo cuando de la observación de los hechos particulares obtenemos proposiciones generales, o sea, es aquél que establece un principio general una vez realizado el estudio y análisis de hechos y fenómenos en particular. La inducción es un proceso mental que consiste en inferir de algunos casos particulares observados la ley general que los rige y que vale para todos los de la misma especie (FREYCES, 2009).

Se recolectaron los datos referentes a la investigación (resultados de los exámenes hormonales, morfometría testicular, histología testicular), para realizar la tabulación y análisis respectivo.

### **2.4.2. Técnicas**

#### **2.4.2.1. La observación**

La observación que presume una conducta deliberada del observador, cuyos objetivos van en la línea de recoger datos en base a los cuales poder formular o verificar, es un proceso riguroso de investigación, que permite describir situaciones y/o contrastar hipótesis, siendo por tanto un método científico. Como procedimiento científico, la observación, requerirá como cualquier otro procedimiento científico, delimitar el

problema o situación a observar, recoger datos, analiza esos datos e interpretar los resultados (BENGURÍA, y otros, 2010).

La observación permitió verificar a través de los resultados obtenidos los cambios que manifestaron los grupos experimentales respecto a la administración del biológico inmunosupresor en relación a las variables planteadas y sus respectivos indicadores.

#### **2.4.2.2. El Fichaje**

El fichaje se basa en el uso de fichas, y sirven para recoger la información de manera sistemática y nos ayuda a clasificar y organizar el trabajo y de esta manera conservarlo (VEGA, 2012).

La técnica del fichaje, permitió recoger la información de manera metódica los resultados de la morfometría testicular y de la dinámica hormonal (FSH, LH, testosterona), así, como los resultados del análisis histopatológico (Túbulos seminíferos y espermatogonias).

### **2.5. Diseño experimental**

#### **2.5.1. Diseño completamente al azar**

El diseño empleado fue el de completamente al azar parte de los conceptos de regresión lineal. Así, el análisis de la varianza nos permite determinar si diferentes tratamientos muestran diferencias significativas o por el contrario puede suponerse que sus medias poblacionales no difieren. El análisis de la varianza además nos permite superar las limitaciones de hacer contrastes bilaterales por parejas (SPIEGEL, 2014).

**Cuadro 4. ESQUEMA DEL ADEVA**

<b>FUENTE</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>
<b>TOTAL</b>	11
<b>TRATAMIENTOS</b>	3
<b>ERROR</b>	8

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

### **2.5.2. Tratamientos**

En la presente investigación se utilizaron 4 tratamientos distribuidos de la siguiente manera.

El primer tratamiento (T1), con tres animales; fue el grupo testigo al cual no se le inoculó el biológico de anti-GnRH

El segundo tratamiento (T2), con tres animales; se aplicó 100 ug/ml del biológico anti-GnRH.

El tercer tratamiento (T3), con tres animales; se administró 300 ug/ml del biológico anti-GnRH.

El cuarto tratamiento (T4), con tres animales; se utilizó 500 ug/ml del biológico anti-GnRH.

### **2.5.3. Unidad Experimental**

En el experimento se emplearon 12 conejos machos, de la raza neozelandés., en edad de 3 meses.

## **2.6. Manejo del ensayo**

### **2.6.1. Elaboración del biológico anti-GnRH**

- La composición química del biológico anti-GnRH, cada 2 ml contiene una proteína análogo del Factor de Liberación de la Gonadotropina (PMSG) en 570ug, que se conjugo a la bacteria clostridium septicum en 4x10<sup>3</sup>ppm y al toxoide del clostridium chauvoei en 16x10<sup>7</sup>ppm. Además se le adhirió un coadyuvante el hidróxido de aluminio con la concentración de 15 mg, en excipientes posee formaldehído no más del 2% y agua para la preparaciones inyectables. Para la elaboración del biológico anti-GnRH se tuvo la colaboración del laboratorio de Diagnóstico Veterinario “ANIMALAB”.
- El biológico anti-GnRH se preservó entre 3 y 7 °C en refrigeración, para evitar posibles alteraciones.

### **2.6.2. Manejo de instalaciones**

- Previó a la adquisición de los animales se realizó la compra y el arreglo de las jaulas para el número correspondiente de unidades experimentales.
- El control sanitario de las instalaciones se realizó con un amonio-cuaternario (Guimon Clear), 7 días previó al ingreso de las unidades experimentales y durante el desarrollo de la investigación se efectuó la limpieza y desinfección de las jaulas cada 7 días.

### **2.6.3. Manejo de los animales**

- La adquisición de las unidades experimentales se realizó en el cantón Cevallos, de la provincia de Tungurahua, los animales fueron adquiridos con 3 meses de edad, de raza Neozelandés, machos sin castrar.
- Una vez adquiridos los animales fueron instalados en la parroquia Picaihua, del cantón Ambato, de la provincia de Tungurahua.

- Los individuos en estudio fueron ubicados al azar según los tratamientos establecidos. Además se les administró vitaminas y dextrosa por vía oral para disminuir el factor estrés causado por el transporte.
- Su alimentación se basó en alfalfa y balanceado durante el tiempo del ensayo.
- A cada conejo se le proporcionó un arete con un número distintivo.
  - Tratamiento 1: Testigo
    - T1-2
    - T1-3
    - T1-4
  - Tratamiento 2: Biológico anti-GnRH con 100 ug/ml
    - T2-7
    - T2-8
    - T2-9
  - Tratamiento 3: Biológico anti-GnRH con 300 ug/ml
    - T3-11
    - T3-12
    - T3-14
  - Tratamiento 4: Biológico anti-GnRH con 500 ug/ml
    - T4-17
    - T4-18
    - T4-19
- Se estableció un periodo de cuarentena de 15 días, para evitar futuras enfermedades.
- Las unidades experimentales fueron desparasitadas al octavo día de llegada.

#### **2.6.4. Aplicación del biológico anti-GnRH**

- La inoculación del biológico anti-GnRH se aplicó en los tratamientos T2, T3 y T4, según las dosis establecidas para cada grupo, por vía subcutánea, cada

15 días, en un total de cuatro aplicaciones; mientras que al tratamiento T1, que fue el grupo testigo no se le administró ninguna dosis de biológico.

- La presente investigación tuvo un tiempo de duración de dos meses.

## **2.6.5. Manejo de variables**

### **2.6.5.1. Morfometría Testicular**

- Se realizaron mediciones por la mañana. del ancho y largo del testículo empleando una cinta métrica y estos datos recolectados se los plasmo en registros.
- Las mediciones se efectuaron cada 15 días en las unidades experimentales de los tratamientos T1, T2, T3 y T4, este parámetro permitió analizar la dinámica de la disminución o aumento respecto a la morfometría testicular.

### **2.6.5.2. Muestras sanguíneas**

- Una muestra de sangre fue tomada un día previó al ensayo para tener valores referenciales y compararlos con los resultados obtenidos después de la aplicación del biológico. El total de muestras sanguíneas obtenidas fueron tres por tratamiento.
- Después de la obtención de la muestra sanguínea referencial, al siguiente día se aplicó la primera dosis del biológico anti-GnRH.
- Una vez aplicada la primera dosis de biológico anti-GnRH, se esperó el transcurso de 15 días para la toma de muestras sanguíneas del grupo control y de los tratamientos establecidos, posteriormente para el desarrollo de todo el ensayo se tomó muestras sanguíneas un día previo a aplicación del biológico anti-GnRH, con un total de 5 tomas de muestras.

- La recolección de muestras sanguíneas a cada unidad experimental se las realizó con todas las normas de higiene y asepsia posible. La extracción de la muestra sanguínea fue mediante punción cardiaca, utilizando jeringas de 3 ml con agujas hipodérmicas de 23G x 1”. Se extrajo la cantidad de 1 ml. de sangre de cada animal para la realización de los análisis hormonales (Hormona Luteinizante, Hormona Folículo Estimulante y Testosterona).
- Las muestras sanguíneas fueron envasadas en tubos vacutainer tapa roja, estas muestras son identificadas en base a los datos según los tratamientos establecidos.
- Posteriormente las muestras sanguíneas fueron empaquetadas de tal manera que puedan resistir las condiciones de temperatura y presión, a las que posiblemente son sometidas durante el transporte. Se evitó la exposición de las muestras al aire y a la luz directa con el fin de proteger a los componentes sensibles a la luz.
- Las muestras fueron analizadas en el “laboratorio Clínico San Francisco” que se encuentra ubicado en la ciudad de Ambato (Mariano Egües y Sucre, Edificio Elite, 5to piso). Los parámetros a ser evaluados fueron: FSH, LH y testosterona en sangre, permitiendo valorar la disminución de los niveles hormonales.

### **2.6.5.3. Histología testicular**

- Al final de la última aplicación del biológico anti-GnRH, se tomó a las unidades experimentales por tratamiento; incluido el grupo testigo, para la extracción de los testículos que se realizó mediante la técnica de castración pre-escrotal con una sola incisión.
- Posteriormente las muestras testiculares fueron colocadas en recipientes con alcohol a 70° para no causar ninguna alteración.
- La identificación se realizó de acuerdo a la ficha de la unidad experimental.
- Las muestras fueron empaquetadas en cooler con hielo para preservar la muestra y posteriormente ser transportadas a “AGROCALIDAD.”

- Las muestras testiculares transportadas a “AGROCALIDAD,” se realizó los histopatológicos, que permitió determinar la acción del biológico anti-GNRH en las estructuras del testículo.
- Los parámetros que se evaluaron en “AGROCALIDAD” son el diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos, porcentaje de espermatogonias y espermatozoides.

### **2.6.5.3.1. Porcentaje de Espermatogonias y Espermatozoides.**

- Para el porcentaje de espermatogonias y espermatozoides se tomaron 10 túbulos seminíferos al azar por unidad experimental para cada tratamiento con el lente 40x que permitió observar las estructuras a nivel histológico. Se sumaron los resultados del número de espermatogonias de los 10 túbulos, se establece el total de espermatogonias más alto y se representa el 100%, posteriormente se realiza una regla de tres simple y se obtiene el porcentaje. El mismo procedimiento se utilizó para obtener el porcentaje de espermatozoides.

#### **2.6.5.3.1.1. Porcentaje de espermatogonias.**

- Número de tratamiento:
- Identificación de la Unidad Experimental:
- Número de espermatogonias por túbulo:

Túbulo 1 + Túbulo 2 + Túbulo 3 + Túbulo 4 + Túbulo 5 + Túbulo 6 + Túbulo 7 +  
Túbulo 8 + Túbulo 9 + Túbulo 10 = TOTAL

- Porcentaje de espermatogonias:

$$\frac{\# \text{ del total espermatogonias}}{\# \text{ del total de espermatogonias mas alto}} * 100\%$$

### 2.6.5.3.1.2. Porcentaje de espermatozoides.

- Número de tratamiento:
- Identificación de la Unidad Experimental:
- Número de espermatozoides por túbulo:

Túbulo 1 + Túbulo 2 + Túbulo 3 + Túbulo 4 + Túbulo 5 + Túbulo 6 + Túbulo 7 +  
Túbulo 8 + Túbulo 9 + Túbulo 10 = TOTAL

- Porcentaje de espermatozoides:

$$\frac{\# \text{ del total de espermatozoides}}{\# \text{ del total de espermatozoides más alto}} * 100\%$$

### 2.6.5.3.2. Identificación de espermatogonias y espermatozoides a nivel histológico

- Se realizó la identificación de los diferentes estadios de la espermatogénesis en las imágenes de los histopatológicos, en la clínica veterinaria “DINO SUR” con el programa MOTIC IMAGEN PLUS 2.0 en los distintos tratamientos.
- Para la diferenciación de las diferentes estructuras se basó en la histología de ULRICH Welst; 2013 en el cual establece:

- **Espermatogonio:** Poseen un citoplasma claro u oscuro, se localizan en el compartimento basal del epitelio y establecen contacto con la lámina basal del epitelio (el resto de las células espermatogénicas están en el compartimento adluminal y no contactan con la lámina basal). Son las verdaderas células madres del epitelio germinativo y se dividen por mitosis.
- **Los espermatoцитos:** se sitúan por encima de las espermatogonias y nada más formarse emigran hacia el compartimento apical.

Están envueltos por prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli. Son las células de mayor tamaño y las más numerosas del epitelio tubular. Tienen un gran núcleo vesiculoso.

- **Espermatide:** El núcleo todavía es claro, se condensa cada vez más cuando y migra hacia la periferia, se localizan cerca de la luz del túbulo seminífero.
- **Espermatozoides:** Son las células ya maduras, se liberan a la luz del túbulo seminífero, están constituidos por tres zonas: cabeza, cuello y cola que pueden ser visibles al microscopio.

## CAPÍTULO III

### 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE DATOS.

En el presente capítulo se analizaron los resultados obtenidos en la investigación, determinando los niveles de concentración hormonal pre, durante y post experimentación con relación a FSH, LH y testosterona; así, como la morfometría e histología testicular.

#### 3.1 Niveles de concentración de las hormonas

##### 3.1.1 Niveles de Concentraciones Hormonales Pre- Experimentación

**Tabla 1. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml**

Observación	HORMONA LH ng/ml				HORMONA FSH ng/ml				TESTOSTERONA ng/ml			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0,12	0,72	0,45	0,13	0,23	0,21	0,32	0,28	0,67	0,59	0,81	0,69
2	0,51	0,15	0,11	0,58	0,11	0,25	0,15	0,32	0,24	0,43	0,11	0,19
3	0,24	0,12	0,42	0,39	0,35	0,10	0,25	0,10	0,54	0,92	0,42	0,48
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,29</b>	<b>0,33</b>	<b>0,32</b>	<b>0,36</b>	<b>0,23</b>	<b>0,19</b>	<b>0,24</b>	<b>0,23</b>	<b>0,48</b>	<b>0,64</b>	<b>0,44</b>	<b>0,45</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 1, se determinaron los resultados de la hormona LH, FSH y testosterona pre- experimentación, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH, FSH y testosterona. Así, los niveles de LH en el T4 (0,36ng/ml) y en el T1 (0,29ng/ml) respectivamente, que concuerda con BRUTON y otros, 2012 que manifiestan que la LH actúan sobre las células testiculares de Leydig para estimular la síntesis de andrógenos. En relación a los valores de FSH este presenta en el T3 (0,24ng/ml) y el T2 (0,19ng/ml) respectivamente. Y respecto a la testosterona los valores son del T2 (0,64ng/ml) y del T3 (0,44ng/ml) respectivamente. Que coincide con HILL; 2006 que esta hormona es necesaria para la mitosis y la meiosis en la espermatogénesis.

**Tabla 2. ADEVA para LH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,01	3	2,9E-03	0,05	0,9846
Error	0,48	8	0,06		
Total	0,49	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 2, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona LH ng/ml, ya que el p-valor (0,9846) es mayor que el nivel de significancia (0,05); considerando estos valores como normales, ya que los niveles de concentración hormonal se encuentran de acuerdo a la edad y estado reproductivo de los grupos experimentales.

### 3.1.1.1. Hormona FSH

**Tabla 3. ADEVA para FSH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,01	3	1,8E-03	0,17	0,9138
Error	0,08	8	0,01		
Total	0,09	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 3, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona FSH ng/ml, ya que el p-valor (0,9138) es mayor que el nivel de significancia (0,05); considerando estos valores como normales, ya que los niveles de concentración hormonal se encuentran de acuerdo a la edad y estado reproductivo de los grupos experimentales.

### 3.1.1.2. Hormona Testosterona

**Tabla 4. ADEVA para Testosterona ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,08	3	0,03	0,36	0,7851
Error	0,59	8	0,07		
Total	0,67	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 4 el p-valor (0,7851) es mayor que el nivel de significancia (0,05), indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona testosterona ng/ml.

### 3.1.2 Niveles de Concentración Hormonal Post– Experimentación (Primera dosis)

**Tabla 5. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml**

Observación	HORMONA LH ng/ml				HORMONA FSH ng/ml				TESTOSTERONA ng/ml			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0,07	0,70	0,04	0,06	0,05	0,09	0,01	0,03	2,94	1,36	9,55	1,79
2	0,09	0,20	0,02	0,05	0,08	0,02	0,02	0,05	0,89	1,87	11,48	4,09
3	0,05	0,17	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,03	2,25	3,02	7,78	0,89
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,07</b>	<b>0,36</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>	<b>0,05</b>	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>	<b>2,03</b>	<b>2,08</b>	<b>9,6</b>	<b>2,26</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 5 se determinó los resultados de la hormona LH, FSH y testosterona post- experimentación, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre

promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH, FSH y testosterona. Así, los niveles de LH en el T2 fueron de (0,36ng/ml) y en el T3 de (0,02ng/ml) respectivamente. En relación a los valores de FSH, este presenta en el T1 (0,05ng/ml) y en el T3 (0,01ng/ml) respectivamente. Mientras que en la testosterona se determina que los rangos de los valores en el T1 (2,03ng/ml), T2 (2,08ng/ml), T4 (2,26ng/ml) son homogéneos entre sí; sin embargo el T3 con (2,26ng/ml) presento un nivel de concentración elevado, estos valores (desniveles en la concentración hormonal) se podrían relacionan con el comportamiento sexual de los animales (características de los efectos secundarios), ya que como consecuencia de la testosterona este generaría efecto dominante, sumisión y supresión hormonal en el resto de los animales; además se considera que posterior a la primera dosis de biológico anti-GnRH, esta no produciría ningún efecto, ya que el sistema inmunitario tardaría aproximadamente entre 15, 21 y 30 días en generar inmunidad, estaría codificándose (reconocimiento del agente patógeno y de la PMSG produciendo un estado de memoria - linfocitos), que coincide con lo reportado por (BRUTON y otros, 2012) y (HILL y colaboradores, 2006).

### 3.1.2.1. Hormona LH (Primera dosis)

**Tabla 6. ADEVA para LH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,22	3	0,07	3,30	0,0786
Error	0,18	8	0,02		
Total	0,40	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 6 se equipara que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona LH ng/ml, ya que el p-valor (0,0786) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Por lo tanto, todos los tratamientos son iguales, y el efecto del biológico no es evidente.

### 3.1.2.2. Hormona FSH (Primera dosis)

**Tabla 7. ADEVA para FSH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	2,2E-03	3	7,25E-04	0,97	0,4515
Error	0,01	8			
Total	0,01	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 7 se determina que no existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación a la hormona FSH ng/ml, ya que el p-valor (0,4515) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Por lo tanto todos los tratamientos son iguales, y el efecto del biológico no es evidente.

### 3.1.2.3. Hormona Testosterona (Primera dosis)

**Tabla 8. ADEVA para Testosterona ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	126,01	3	42	21,11	0,0004 **
Error	15,92	8	1,99		
Total	141,93	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 8 se observa que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona testosterona ng/ml, ya que el p-valor (0,0004) es menor que el nivel de significancia (0,05).

**Tabla 9. Prueba Duncan al 5% para Testosterona ng/ml**

Tratamiento	Promedio	Rango
1	0,03	A
2	2,08	A
4	2,26	A
3	9,60	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1A, T2A y T4A respecto al grupo T3B o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados T3 aumenta significativamente la concentración de testosterona sérica respecto al T1 grupo testigo o control y T2 y T4. Así, se concuerda con STERSS y ADAMS; 2006 quienes ejecutaron una investigación en la que estudiaron la disminución de la estructura testicular mediante la aplicación de la GnRH en conejos, emplearon 350 microgramos de un conjugado de proteína GnRH, concluyendo que el biológico anti-GnRH suprime con vigor la secreción de testosterona y reduce el tamaño del testículo, que se compara con los resultados de nuestro estudio.

### 3.1.3. Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación (Segunda dosis)

**Tabla 10. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml**

Observación	HORMONA LH ng/ml				HORMONA FSH ng/ml				TESTOSTERONA ng/ml			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
<b>1</b>	0,39	0,28	0,12	0,22	0,01	0,80	0,06	0,73	0,70	0,63	8,84	1,00
<b>2</b>	0,09	0,07	0,01	0,43	0,02	0,00	0,00	0,98	0,31	0,27	0,26	1,82
<b>3</b>	0,17	0,32	0,01	0,52	0,02	0,87	0,02	1,24	1,24	5,93	0,65	4,21
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,22</b>	<b>0,22</b>	<b>0,05</b>	<b>0,39</b>	<b>0,02</b>	<b>0,56</b>	<b>0,03</b>	<b>0,98</b>	<b>0,75</b>	<b>2,28</b>	<b>3,25</b>	<b>2,34</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 10, se determinó los resultados de la hormona LH, FSH y testosterona post- experimentación (segunda dosis), en las que se observa que existen diferencias numéricas entre promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH, FSH y testosterona. Así, los niveles de LH en el T4 fueron de (0.39ng/ml) y en el T3 (0.05ng/ml) respectivamente. En relación a los valores de FSH, este presenta en el T4 (0.98ng/ml) y en el T1 (0.02ng/ml) respectivamente.

Mientras que en la testosterona se determina que los rangos de los valores en el T4 (2.34ng/ml), T2 (2.28ng/ml) son homogéneos entre sí; sin embargo el T3 (3.25 ng/ml) presento un nivel de concentración más elevado, y el T1 (0.75ng/ml) el nivel más bajo (desniveles en la concentración hormonal). Por lo tanto, se observa que a partir de la segunda aplicación el efecto del biológico genera efecto, determinada por los niveles de testosterona que disminuyen de manera progresiva.

### 3.1.3.1. Hormona LH (Segunda dosis)

**Tabla 11. ADEVA para LH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,18	3	0,06	3,37	0,0750
<b>Error</b>	0,14	8	0,02		
<b>Total</b>	0,32	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se analiza en la tabla N° 11 esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona LH ng/ml, ya que el p-valor (0,0750) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Por lo tanto todos los tratamientos son iguales, y el efecto del biológico no es evidente.

### 3.1.3.2. Hormona FSH (Segunda dosis)

**Tabla 12. ADEVA para FSH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	1,95	3	0,65	8,69	0,0067**
<b>Error</b>	0,60	8	0,07		
<b>Total</b>	2,55	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 12 se identifica que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona FSH ng/ml, ya que el p-valor (0,0067) es menor que el nivel de significancia (0,05).

**Tabla 13. Prueba Duncan al 5% para FSH ng/ml**

Tratamiento	Promedio	Rango
1	0,02	A
2	0,03	A
4	0,56	B
3	0,98	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al analizar la tabla N°13 con relación a la segunda dosis de biológico anti-GnRH se observa que los niveles de FSH han disminuido de manera drástica ya que según Alvares; 2001 manifiesta que el estrés por sujeción interfiere con la secreción de LH y FSH luego de inyecciones de GnRH, además este factor influye en la disminución del libido en machos.

### 3.1.3.3. Hormona Testosterona (Segunda dosis)

**Tabla 14. ADEVA para Testosterona ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	9,67	3	3,22	0,35	0,7884
<b>Error</b>	73,03	8	9,13		
<b>Total</b>	82,70	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Se determina que en la tabla N° 14 que el p-valor (0,7884) es mayor que el nivel de significancia (0,05), por lo tanto no existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación a la hormona testosterona ng/ml en la segunda dosis de aplicación.

### 3.1.4. Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación (Tercera dosis)

**Tabla 15. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml**

Observación	HORMONA LH ng/ml				HORMONA FSH ng/ml				TESTOSTERONA ng/ml			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	0,36	0,25	0,10	0,03	0,13	0,01	0,04	0,01	0,39	9,10	0,25	2,42
2	0,11	0,16	0,14	0,08	0,08	0,02	0,09	0,02	8,29	4,78	0,01	0,53
3	0,10	0,28	0,08	0,07	0,05	0,42	0,05	0,39	0,68	4,47	0,11	0,09
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,19</b>	<b>0,23</b>	<b>0,11</b>	<b>0,06</b>	<b>0,09</b>	<b>0,15</b>	<b>0,06</b>	<b>0,14</b>	<b>3,12</b>	<b>6,12</b>	<b>0,12</b>	<b>1,01</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 15 se determinó los resultados de la hormona LH, FSH y testosterona post- experimentación (tercera dosis), en las que se observa que existen diferencias numéricas entre promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH, FSH y testosterona. Así, los niveles de LH en el T2 fueron de (0,23ng/ml) y en el T4 (0,06ng/ml) respectivamente. En relación a los valores de FSH, este presenta en el T3 (0,06ng/ml) y en el T2 (0,15ng/ml) respectivamente. Mientras que en la testosterona se determina que los rangos de los valores en el T1 (3,12ng/ml), T2 (6,12ng/ml) son elevados; sin embargo el T4 (1,01ng/ml) presento un nivel de concentración intermedio, y el T3 (0,12ng/ml) el nivel más bajo (desniveles en la concentración hormonal). Por lo tanto, se observa que el biológico influye en las concentraciones de las hormonas, determinando disminución progresiva o mantención de los niveles bajos.

#### 3.1.4.1. Hormona LH (Tercera dosis)

**Tabla 16. ADEVA para LH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,05	3	0,02	6,63	0,1216
Error	0,05	8	0,01		
Total	0,11	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Se observa en la tabla N° 16 que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona LH ng/ml con relación a la tercera dosis de aplicación, ya que los resultados del ADEVA muestran que el p-valor (0,1216) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

#### 3.1.4.2. Hormona FSH (Tercera dosis)

**Tabla 17. ADEVA para FSH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,02	3	0,01	0,21	0,8845
<b>Error</b>	0,21	8	0,03		
<b>Total</b>	0,22	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al analizar la tabla N° 17 que el p-valor (0,8845) es mayor que el nivel de significancia (0,05), por lo tanto no existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación a la hormona FSH ng/ml, por lo tanto todos los tratamientos son iguales.

#### 3.1.4.3. Hormona Testosterona (Tercera dosis)

**Tabla 18. ADEVA para Testosterona ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	63,87	3	21,29	3,01	0,0947
<b>Error</b>	56,63	8	7,08		
<b>Total</b>	120,49	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 18 se determina los resultados del ADEVA en el que manifiesta que el p-valor (0,0947) es mayor que el nivel de significancia (0,05) se establece que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona testosterona ng/ml en la tercera aplicación.

### 3.1.5. Niveles de Concentración Hormonal Post– Experimentación (Cuarta dosis)

**Tabla 19. Concentración Hormonal (LH, FSH, Testosterona) ng/ml**

Observación	HORMONA LH ng/ml				HORMONA FSH ng/ml				TESTOSTERONA ng/ml			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
<b>1</b>	0,00	0,01	0,08	0,00	0,00	0,02	0,00	0,01	13,35	3,51	0,04	1,79
<b>2</b>	0,01	0,03	0,01	0,03	0,00	0,07	0,01	0,02	0,20	0,03	0,01	0,43
<b>3</b>	0,02	0,09	0,02	0,00	0,03	0,06	0,04	0,00	11,89	2,92	0,00	0,00
<b>PROMEDIO</b>	<b>0,01</b>	<b>0,03</b>	<b>0,03</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,05</b>	<b>0,01</b>	<b>0,07</b>	<b>8,48</b>	<b>2,15</b>	<b>0,02</b>	<b>0,74</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 19, se determinó los resultados de la hormona LH, FSH y testosterona post- experimentación (cuarta dosis), en las que se observa que existen diferencias numéricas entre promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH, FSH y testosterona. Así, los niveles de LH en el T2 y T3 fueron de (0,03ng/ml), en el T1 y T4 (0,01ng/ml) respectivamente. En relación a los valores de FSH, este presenta en el T1 y T3 (0,01ng/ml) y en el T4 (0,07ng/ml) respectivamente. Mientras que en la testosterona se determina que los rangos de los valores en el T1 (8,48ng/ml), T2 (2,15ng/ml) son elevados; sin embargo el T3 (0,02ng/ml) y el T4 (0,74ng/ml) presentaron los niveles más bajos (desniveles en la concentración hormonal). Por lo tanto, se observa que el biológico influencia en las concentraciones de las hormonas, determinando disminución progresiva o mantención de los niveles bajos. Por lo tanto, las diferentes dosis aplicadas de 500 ug/ml, 300ug/ml y 100 ug/ml generaren mayor efecto respecto a la disminución de los niveles de LH, FSH y testosterona sérica en relación al grupo control.

Al analizar la primer dosis de aplicación con relación a la cuarta dosis de biológico anti-GnRH se observa que los niveles de LH y FSH han disminuido de manera drástica ya que según Alvares; 2001 manifiesta que el estrés por sujeción interfiere con la secreción de LH y FSH luego de inyecciones de GnRH, además este factor influye en la disminución del libido en machos.

### 3.1.5.1. Hormona LH (Cuarta dosis)

**Tabla 20. ADEVA para LH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	2,8E-03	3	9,2E-04	1,03	0,4279
<b>Error</b>	0,01	8	8,2E-04		
<b>Total</b>	0,01	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 20 se observa que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona LH ng/ml, ya que el p-valor (0,4279) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.1.5.2. Hormona FSH (Cuarta dosis)

**Tabla 21. ADEVA para FSH ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	3,3E-03	3	1,1E-03	2,87	0,1037
<b>Error</b>	3,3E-03	8	3,8E-04		
<b>Total</b>	0,01	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 21, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona FSH ng/ml, ya que el p-valor (0,3187) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Por lo tanto todos los tratamientos son iguales, y el efecto del biológico no es evidente.

### 3.1.5.3. Hormona Testosterona (Cuarta dosis)

**Tabla 22. ADEVA para Testosterona ng/ml**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	133,99	3	44,66	3,17	0,0851
<b>Error</b>	112,59	8	14,07		
<b>Total</b>	246,57	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 22, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la hormona Testosterona ng/ml, ya que el p-valor (0,0851) es mayor que el nivel de significancia (0.05). Por lo tanto todos los tratamientos son iguales, y el efecto del biológico no es evidente.

### 3.2. Morfometría testicular

#### 3.2.1. Mediciones de los testículos Pre-Experimentación

Tabla 23. Mediciones testiculares cm.

Observación	Largo (longitud) del testículo derecho cm.				Largo (longitud) del testículo izquierdo cm.				Ancho (diámetro) del testículo derecho cm.				Ancho (diámetro) del testículo izquierdo cm.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	1,5	1,5	1,7	1,5	1,5	2	1,7	1,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
2	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5
3	1,5	1,1	1	1,4	1,5	1,1	1	1,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
PROMEDIO	1,5	1,5	1,4	1,03	1,5	1,5	1,4	1,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

Respecto a la tabla N° 23, se observa que las diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (longitud y diámetro del testículo izquierdo y derecho) son mínimas para la longitud y no existentes para el diámetro. Estas diferencias son independientes en cada grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Sin embargo las diferencias mínimas están acorde a la edad y raza de los lagomorfos.

#### 3.2.1.1. Largo del testículo derecho cm.

Tabla 24. ADEVA para el largo del testículo derecho

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,03	3	0,01	0,24	0,8674
Error	0,37	8	0,05		
Total	0,41	11			

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

La tabla N° 24 se observa que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al largo del testículo derecho, ya que el p-valor (0,8674) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.2.1.2. Largo del testículo Izquierdo cm.

**Tabla 25. ADEVA para largo del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,18	3	0,06	0,53	0,6722
<b>Error</b>	0,90	8	0,11		
<b>Total</b>	1,08	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al establecer la tabla N° 25 se determina que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al largo del testículo izquierdo, ya que el p-valor (0,6722) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.2.1.3. Ancho del testículo derecho.

**Tabla 26. ADEVA para el ancho del testículo derecho.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,01	3	2,2	0,89	0,4872
<b>Error</b>	0,02	8	2,5		
<b>Total</b>	0,03	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 26 se concluye que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al ancho del testículo derecho pre-experimentación ya que el p-valor (0,4872) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.2.1.4. Ancho del testículo izquierdo.

**Tabla 27. ADEVA para ancho del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,01	3	3,3	0,67	0,5957
<b>Error</b>	0,04	8	0,01		
<b>Total</b>	0,05	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al observar la tabla N° 27 no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo izquierdo pre - experimentación, ya que el p-valor (0,5957) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.2.2. Medición de los testículos Post-Experimentación (Primera medición)

**Tabla 28. Mediciones testiculares cm.**

Observación	Largo (longitud) del testículo derecho cm.				Largo (longitud) del testículo izquierdo cm.				Ancho (diámetro) del testículo derecho cm.				Ancho (diámetro) del testículo izquierdo cm.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	2	2	2,2	2	2	2,5	2,2	2	0,5	0,6	0,8	0,7	0,5	0,6	0,8	0,7
2	2	2	2	2	2	2	1,5	2	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6
3	2	1,5	1,5	1,5	2	1,5	1,5	1,5	0,7	0,5	0,6	0,5	0,7	0,5	0,6	0,5
<b>PROMEDIO</b>	<b>2</b>	<b>1,8</b>	<b>1,9</b>	<b>1,8</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1,7</b>	<b>1,8</b>	<b>0,5</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>	<b>0,7</b>	<b>0,6</b>	<b>0,6</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 28 se identifica que existe diferencia mínima numérica en el largo del testículo izquierdo y derecho ya que en relación a la primera medición los testículos crecen de manera paulatina entre los tratamientos al igual que el ancho del testículo.

#### 3.2.1.1. Largo del testículo derecho (primera medición)

**Tabla 29. ADEVA para el largo del testículo derecho**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,06	3	0,02	0,25	0,8586
<b>Error</b>	0,59	8	0,07		
<b>Total</b>	0,65	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 29 se establece que el p-valor (0,8586) es mayor el nivel de significancia (0,05) por ende no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al largo del testículo derecho post-experimentación en la primera medición.

### 3.2.1.2. Largo del testículo izquierdo (primera medición)

**Tabla 30. ADEVA para largo del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,16	3	0,05	0,42	0,7448
Error	0,99	8	0,12		
Total	1,15	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 30, se establece que el p-valor (0,7448) es mayor al nivel de significancia (0,05) por lo tanto no existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación al largo del testículo izquierdo post-experimentación en la primera medición.

### 3.2.1.3. Ancho del testículo derecho (primera medición)

**Tabla 31. ADEVA para el ancho del testículo derecho.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,01	3	3,1	0,24	0,8630
Error	0,10	8	0,01		
Total	0,11	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 31 se identifica que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo derecho post-experimentación en la primera medición, ya que el p-valor (0,8630) es mayor que el nivel de significancia (0,05).

### 3.2.1.4. Ancho del testículo izquierdo (primera medición)

**Tabla 32. ADEVA para ancho del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,02	3	0,01	0,29	0,8317
Error	0,15	8	0,02		
Total	0,17	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 32 con relación al ADEVA se determina que el p-valor (0,8317) es mayor al nivel de significancia (0,05), por ende no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo izquierdo post-experimentación en la primera medición.

### 3.2.3. Medición del testículo Post-Experimentación (Segunda medición)

**Tabla 33. Mediciones testiculares cm.**

Observación	Largo (longitud) del testículo derecho cm.				Largo (longitud) del testículo izquierdo cm.				Ancho (diámetro) del testículo derecho cm.				Ancho (diámetro) del testículo izquierdo cm.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
<b>1</b>	2,5	3,5	2,8	2,5	2,5	3,3	2,9	2,7	0,6	1	1	0,9	0,6	1	1	0,9
<b>2</b>	3	2,5	2,5	3	3	2,5	2,6	3	1	1	0,8	1	1	1	0,8	1
<b>3</b>	3,1	2	2,6	3	3,3	2,2	2,5	2,5	1	0,7	1	0,9	1	0,7	1	0,9
<b>PROMEDIO</b>	<b>2,8</b>	<b>2,6</b>	<b>2,6</b>	<b>2,8</b>	<b>2,9</b>	<b>2,6</b>	<b>2,6</b>	<b>2,7</b>	<b>0,8</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	<b>0,9</b>	<b>0,8</b>	<b>0,9</b>	<b>1</b>	<b>0,9</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 33 se identifica que existe diferencia mínima numérica en el largo del testículo izquierdo y derecho ya que en relación a la segunda medición los testículos crecen al igual que el ancho del testículo.

#### 3.2.3.1. Largo del testículo derecho (Segunda medición)

**Tabla 34. ADEVA para el largo del testículo derecho**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	0,12	3	0,04	0,21	0,8886
<b>Error</b>	1,59	8	0,20		
<b>Total</b>	1,71	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 34 se identifica que el p-valor (0,8886) es mayor que el nivel de significancia (0,05), es decir que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo derecho post-experimentación en la segunda medición.

### 3.2.3.2. Largo del testículo Izquierdo (Segunda medición)

**Tabla 35. ADEVA para largo del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,14	3	0,05	0,32	0,8095
Error	0,19	8	0,15		
Total	1,33	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 35 se observa que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo izquierdo post-experimentación en la segunda medición.

### 3.2.3.3. Ancho del testículo derecho (Segunda medición)

**Tabla 36. ADEVA para el ancho del testículo derecho.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,01	3	3,1	0,12	0,9444
Error	0,20	8	0,03		
Total	0,21	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se observa en la tabla N° 36 se establece que el p-valor (0,9444) es mayor que el nivel de significancia (0,05), por lo tanto no existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo derecho post-experimentación en la segunda medición.

### 3.2.3.4. Ancho del testículo izquierdo (Segunda medición)

**Tabla 37. ADEVA para ancho del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,03	3	0,01	0,67	0,5957
Error	0,13	8	0,02		
Total	0,17	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 37 se analiza los resultados del ADEVA que p-valor (0,5957) es mayor que el nivel de significancia (0,05), por lo tanto no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al ancho del testículo izquierdo post-experimentación de la segunda medición, por ende todos los tratamientos son iguales.

### 3.2.4. Medición de los testículos cm. Post-Experimentación (Tercera medición)

**Tabla 38. Mediciones testiculares cm.**

Observación	Largo (longitud) del testículo derecho cm.				Largo (longitud) del testículo izquierdo cm.				Ancho (diámetro) del testículo derecho cm.				Ancho (diámetro) del testículo izquierdo cm.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	3,6	4	2,5	1,5	3,6	4	2,5	1,5	1	1,1	0,9	1	1	1,1	0,9	1
2	3,5	4	3	1,7	3,5	4	3	1,7	1	1	1	1	1	1	1	1
3	4	3,5	3	1,5	4	3,5	3	1,5	1,1	1,1	1	1	1,1	1,1	1	1
<b>PROMEDIO</b>	<b>3,7</b>	<b>3,83</b>	<b>2,83</b>	<b>1,57</b>	<b>3,7</b>	<b>3,83</b>	<b>2,83</b>	<b>1,57</b>	<b>1,03</b>	<b>1,07</b>	<b>0,97</b>	<b>1</b>	<b>1,03</b>	<b>1,07</b>	<b>0,97</b>	<b>1</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 38, se observa que existen diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (longitud y diámetro del testículo izquierdo y derecho). Estas diferencias son independientes en cada grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Sin embargo las diferencias mínimas están acorde a la edad y raza de los lagomorfos, y su tamaño es mayor en relación a los grupos del pre- experimento y primera aplicación

### 3.2.4.1. Largo del testículo derecho (Tercera medición)

**Tabla 39. ADEVA para largo del testículo derecho**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	9,80	3	3,27	52,25	0,0001**
<b>Error</b>	0,50	8	0,06		
<b>Total</b>	10,30	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 39, se observa que existe diferencia significativa p-valor (0,0001) entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo derecho post-experimentación en la tercera medición. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Se considera que la aplicación del biológico influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud del testículo derecho.

**Tabla 40. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo derecho**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	1,57	A
3	2,83	B
1	3,70	C
2	3,87	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 40, en el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen tres rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1C, T2C respecto al T3B y T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir o detienen su crecimiento significativamente. Así, se concuerda con YU; 2002 quienes investigaron la administraron intraperitoneal de hormona liberadora de

gonadotropina-PE40, determinando inducción a la castración en las ratas macho, generando alteración estructural y funcional en el sistema reproductivo, que es muy similar a los efectos generados en el T3 y T4 respecto a la inmunosupresión del desarrollo gonadal.

### 3.2.4.2. Largo del testículo izquierdo (Tercera medición)

**Tabla 41. ADEVA para largo del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	9,80	3	3,27	52,25	0,0001**
<b>Error</b>	0,50	8	0,06		
<b>Total</b>	10,30	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 41 se observa que existe diferencia significativa p-valor (0,0001) entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo derecho post-experimentación en la tercera medición. Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Se considera que la aplicación del biológico influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud del testículo derecho.

**Tabla 42. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo izquierdo**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	1,57	A
3	2,83	B
1	3,70	C
2	3,87	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la prueba de Duncan con significancia al 5%, en la tabla N°42 se fija que existe diferencia mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen tres rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1C, T2C respecto al T3B y T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir o detienen su crecimiento significativamente. Así, se

concuerta con AHMAD J; 2011 en una investigación sobre los efectos de Kamdhenu Arca y la inmunización activa de hormona liberadora de gonadotropina conjugado (GnRH-BSA) en la que establece que el biológico contra bloques de GnRH del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal produce castración inmunológica en animales de granja, animales de compañía y especies silvestres, los resultados de las aplicaciones del biológico demuestran disminución del tamaño del testículo en relación al grupo control, al conjugarla con la presente investigación presenta semejanza de disminución del tamaño del testículo con relación al T4 y se recomienda que la dosis de 500 ug/ml produce un efecto supresor de las ganadas.

### 3.2.4.3. Ancho del testículo derecho (Tercera medición)

**Tabla 43. ADEVA para el ancho del testículo derecho.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,02	3	0,01	2,22	0,1631
Error	0,02	8	2		
Total	0,04	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al plasmar la tabla N° 43 se observa que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al ancho del testículo derecho post-experimentación de la tercera medición, por lo tanto todos los tratamientos son iguales.

### 3.2.4.4. Ancho del testículo izquierdo (Tercera medición)

**Tabla 44. ADEVA para ancho del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	0,02	3	0,01	2,22	0,1631
Error	0,02	8	2		
Total	0,04	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 44 se observa que el p-valor (0,1631) es mayor que el nivel de significancia (0,05), es decir que no existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación al ancho del testículo izquierdo post-experimentación de la tercera medición.

### 3.2.5. Medición de los testículos cm. Post-Experimentación (Cuarta medición)

**Tabla 45. Mediciones testiculares cm.**

Observación	Largo (longitud) del testículo derecho cm.				Largo (longitud) del testículo izquierdo cm.				Ancho (diámetro) del testículo derecho cm.				Ancho (diámetro) del testículo izquierdo cm.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	4	4	2	1	4	4	2	1	1,2	1,2	0,5	0,5	1,2	1,2	0,5	0,5
2	5	4	2	1	5	4	2	1	1,2	1	0,5	0,5	1,2	1	0,5	0,5
3	4	3	1,4	1	4	3	0,9	1	1	0,9	0,5	0,5	1	0,9	0,5	0,5
<b>PROMEDIO</b>	<b>4,33</b>	<b>3,67</b>	<b>1,8</b>	<b>1</b>	<b>4,33</b>	<b>3,67</b>	<b>1,63</b>	<b>1</b>	<b>1,13</b>	<b>1,03</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>1,13</b>	<b>1,03</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 45, se observa que existen diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (longitud y diámetro del testículo izquierdo y derecho). Estas diferencias son independientes en cada grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Sin embargo las diferencias mínimas están acorde a la edad y raza de los lagomorfos en el T1 o grupo control. Sin embargo, se observa disminución considerable en el diámetro y longitud en los grupos T2, T3 y T4, por lo tanto se concluye que la aplicación de 300ug/ml a 500 ug/ml disminuye el parénquima testicular al igual que el número de células de sertoli y de Leydig.

#### 3.2.5.1. Largo del testículo derecho (Cuarta medición)

**Tabla 46. ADEVA para el largo del testículo derecho**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	21,91	3	7,30	37,13	0,001**
<b>Error</b>	1,57	8	0,20		
<b>Total</b>	23,48	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 46, se observa que existe diferencia significativa p-valor (0,001) entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo derecho post-experimentación en la cuarta medición. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Se considera que la aplicación del biológico influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de la longitud del testículo derecho.

**Tabla 47. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo derecho**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	1,00	A
3	1,80	A
2	3,67	B
1	4,33	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 47, en el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1B, T2B respecto al T3A y T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir o detienen su crecimiento significativamente, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados. Se coincide con lo reportado por MEDRANO H; 2007 en el que describe el efecto sobre las gónadas de terneros utilizando anti GnRH de tal manera se concluye que en la presente investigación el T4 con una dosis de 300 ug/ml a 500 ug/ml produce un efecto supresor de las hormonas sexuales que se reflejan en la disminución del desarrollo de las estructuras testiculares.

### 3.2.5.2. Largo del testículo izquierdo (Cuarta medición)

**Tabla 48. ADEVA para largo del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	22,87	3	7,62	28,50	0,0001**
Error	2,14	8	0,27		
Total	25,01	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al establecer la tabla N° 48 se identifica en el ADEVA que p-valor (0,0001) es menor que el nivel de significancia (0,05), por ende existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del largo del testículo izquierdo post-experimentación en la cuarta medición.

**Tabla 49. Prueba Duncan al 5% para largo del testículo izquierdo**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	1,00	A
3	1,63	A
2	3,67	B
1	4,33	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Como se identifica en la tabla N° 49 al realizar la prueba de Duncan con significancia al 5% se determina que existe diferencia entre tratamientos que se categoriza de la siguiente manera T1, T2 son iguales pero difieren del T3, T4. Sin embargo el que menor promedio tiene es el T4 con la dosis de 500 ug/ml. Se coincide con lo reportado con GHONEIM IM; 2010 en un estudio de inmunización contra la GnRH en camellos machos demostraron la viabilidad del estudio con la aplicación de 2 mg de GnRH.

### 3.2.5.3. Ancho del testículo derecho (Cuarta medición)

**Tabla 50. ADEVA para el ancho del testículo derecho.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	1,04	3	0,353	7,67	0,0001**
<b>Error</b>	1,07	8	0,01		
<b>Total</b>	1,11	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 50 se identifica que el p-valor (0,0001) es menor que el nivel de significancia (0,05), es decir que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo derecho post-experimentación en la cuarta medición.

**Tabla 51. Prueba Duncan al 5% para ancho del testículo derecho**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	0,50	A
3	0,50	A
2	1,03	B
1	1,13	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 51, en el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1B, T2B respecto al T3A y T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir o detienen su crecimiento significativamente, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados. Se coincide con lo

reportado por (MEDRANO H; y colaboradores. 2007) en el que describen el efecto sobre las gónadas de terneros utilizando anti GnRH.

### 3.2.5.4. Ancho del testículo izquierdo (Cuarta medición)

**Tabla 52. ADEVA para ancho del testículo izquierdo**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	1,04	3	0,35	37,67	0,0001**
<b>Error</b>	0,07	8	0,01		
<b>Total</b>	1,11	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 52 se observa que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a la medición del ancho del testículo izquierdo post-experimentación en la cuarta medición.

**Tabla 53. Prueba Duncan al 5% para ancho del testículo izquierdo**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	0,50	A
3	0,50	A
2	1,03	B
1	1,13	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 53, en el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T1B, T2B respecto al T3A y T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir o

detienen su crecimiento significativamente, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados.

### 3.3. Pesos del testículo gr. Post-castración quirúrgica

**Tabla 54. Pesos del testículo derecho gr.**

Observación	Derecho gr.				Izquierdo gr.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
<b>1</b>	4	3	2,01	0,994	4	3	2,01	0,994
<b>2</b>	3,01	2,35	2,10	0,976	3,01	2,35	2,1	0,976
<b>3</b>	3,98	2,29	2,17	0,958	3,98	2,29	2,17	0,958
<b>PROMEDIO</b>	<b>3,66</b>	<b>2,55</b>	<b>2,09</b>	<b>0,89</b>	<b>3,66</b>	<b>2,55</b>	<b>2,09</b>	<b>0,89</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 54 se observa que existen diferencias numéricas de promedios en relación a los pesos de los testículos derecho e izquierdo respectivamente. Estas diferencias son independientes en cada grupo, ya que depende del factor individual de desarrollo testicular. Así, las diferencias mínimas están acorde a la edad y raza de los lagomorfos en el T1 o grupo testigo. Sin embargo, los grupos que corresponden a los tratamientos T2, T3 y T4 muestran pesos muy inferiores comparados con el grupo control, posiblemente por el efecto inmunosupresor generado por el sistema inmunitario anti-GnRH. Además, se determina que existen diferencias entre los tratamientos T2, T3 y T4 considerando que los resultados son directamente proporcionales a la dosis del biológico empleado.

#### 3.3.1. Testículo Derecho

**Tabla 55. ADEVA para pesos de los testículos derechos.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	11,14	3	3,71	30,82	0,0001**
<b>Error</b>	0,96	8	0,12		
<b>Total</b>	12,10	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 55 se puede constatar que en el ADEVA el p-valor (0,0001) es menor que el nivel de significancia (0,05), para lo cual existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a los pesos de los testículos derecho post-castración quirúrgica.

**Tabla 56. Prueba Duncan al 5% para peso del testículo derecho**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	0,98	A
3	2,09	B
2	2,55	B
1	3,66	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 56 se realiza la prueba de Duncan con significancia al 5% en el que se determina que existe diferencia entre tratamientos, es decir en este caso existen tres rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T2B, T3B y T4A respecto al T1C o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir significativamente el crecimiento, por lo tanto la dosis de 500ug/ml es recomendable para producir un efecto supresor de gónadas.

### 3.3.2. Testículo Izquierdo

**Tabla 57. ADEVA para pesos del testículo izquierdo.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	11,14	3	3,71	30,82	0,0001**
<b>Error</b>	0,96	8	0,12		
<b>Total</b>	12,10	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 57, se observa que existe diferencia significativa p-valor (0,0001) entre los tratamientos con relación a los pesos de los testículos izquierdos post-experimentación en la cuarta medición. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se determina que existen diferencias entre los grupos del experimento. Se considera que

la aplicación del biológico influye en la concentración sérica de FSH, LH y testosterona, determinando disminución de los pesos de los testículos izquierdos.

**Tabla 58. Prueba Duncan al 5% para peso del testículo izquierdo.**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	0,98	A
3	2,09	B
2	2,55	B
1	3,66	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la prueba de Duncan con significancia al 5% en la tabla N°58 se determina que existe diferencia entre tratamientos que se categoriza de la siguiente manera tres rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T2B, T3B y T4A respecto al T1C o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 empiezan a reducir significativamente el crecimiento, por lo tanto sus pesos, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados. Se coincide con lo reportado por (MEDRANO H; y colaboradores. 2007) en el que describen el efecto sobre las gónadas de terneros utilizando anti GnRH.

### 3.4. Medición del diámetro de los túbulos seminíferos

**Tabla 59. Medición del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos (um).**

Observación	Diámetro menor um.				Diámetro mayor um.			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	124,03	170,41	84,16	82,30	187,97	230,48	113,02	108,24
2	112,91	171,40	77,00	65,81	207,67	229,67	106,43	89,34
3	154,50	142,60	82,18	70,04	244,22	213,30	108,06	96,96
<b>PROMEDIO</b>	<b>130,48</b>	<b>161,47</b>	<b>81,11</b>	<b>72,72</b>	<b>213,29</b>	<b>224,48</b>	<b>109,17</b>	<b>98,18</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 59 se observa que existen diferencias numéricas de promedios en relación al diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos. Así, se determina que el diámetro mayor y menor son mayores del grupo control T1 respecto a los grupos del tratamiento T2, T3 y T4. Por lo tanto, se considera que el efecto del biológico anti-GnRH genera disminución en la concentración de los niveles séricos de LH, FSH y testosterona han determinado una disminución progresiva en el diámetro de los túbulos seminíferos, Así, se establece que la dosis es directamente proporcional al efecto generado sobre el tejido testicular.

### 3.4.1. Diámetro mayor de los túbulos seminíferos (um).

**Tabla 60. ADEVA para el diámetro mayor de los túbulos seminíferos.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	40189,25	3	13396,42	53,01	0,0001**
<b>Error</b>	2021,68	8	252,71		
<b>Total</b>	42210,93	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 60 se observa que existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación al diámetro mayor de los túbulos seminíferos, ya que el p-valor (0,0001) es menor que el nivel de significancia (0,05).

**Tabla 61. Prueba de Duncan con significancia al 5% para el diámetro mayor de los túbulos seminíferos**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	98,18	A
3	109,17	A
1	213,29	B
2	224,48	B

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 61 en la prueba de Duncan con significancia al 5% se establece que existe diferencia entre tratamientos que se categoriza en dos rangos que se

diferencia particularmente entre los grupos T1B, T2B y T3A, T4A o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 han reducido significativamente el desarrollo de los túbulos seminíferos, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados.

### 3.4.2. Diámetro menor de los túbulos seminíferos (um).

**Tabla 62. ADEVA para el diámetro menor de los túbulos seminíferos.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Tratamiento</b>	15854,18	3	5284,73	25,84	0,0002**
<b>Error</b>	1635,92	8	204,49		
<b>Total</b>	17490,10	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 62 se identifica que existe diferencia significativa entre los tratamientos con relación a al diámetro menor de los túbulos seminíferos, ya que el p-valor (0,0002) es menor que el nivel de significancia (0,05).

**Tabla 63. Prueba de Duncan con significancia al 5% para el diámetro menor de los túbulos seminíferos**

Tratamiento	Promedio	Rango
4	72,72	A
3	81,11	A
1	130,48	B
2	161,47	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al realizar la tabla N° 63 se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen dos rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T3A, T4A, T2C respecto al T1B, o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 han reducido significativamente el desarrollo de los túbulos seminíferos, posiblemente la dosis tenga un efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados.

### 3.5. Porcentaje de espermatogonias y espermatozoides a nivel de túbulos seminíferos

**Tabla 64. Porcentaje de espermatogonias y espermatozoides**

Observación	ESPERMATOGONIAS				ESPERMATOZOIDE			
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
1	48	53,65	52,7	45,55	40,78	77,19	0	0
2	81	100	55,24	37,84	51,97	52,85	0	0
3	56,3	50,59	50,99	58,56	100	13,37	0	0
<b>PROMEDIO</b>	<b>61,67</b>	<b>68,08</b>	<b>52,98</b>	<b>47,32</b>	<b>64,25</b>	<b>47,80</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

En la tabla N° 64 se observa que existe diferencia numérica de promedios en relación al porcentaje de espermatogonias y espermatozoides. Así, se determina que el T2 (68,08%) presenta el mayor promedio de porcentaje de espermatogonias, seguido por T1 (61,67%), T3 (52,98%) y el T4 (47,32%) con el menor promedio. En relación al porcentaje de espermatozoides se identifica que existe diferencia entre promedios, siendo el T1 (64,25%) el que presenta el mayor promedio de porcentaje de espermatozoides, seguido por T2 (47,80%), el T3 (52,98). Sin embargo, el T3 (0,0%) y T4 (0,0%) presentan ausencia total; por lo tanto se considera que la aplicación de las diferentes dosis 300ug/ml y 500 ug/ml bloquean la espermatogénesis en diferentes grados, desde disminución hasta ausencia completa de espermatozoides, generando en los animales un estado prepuberal.

#### 3.5.1. Porcentaje de espermatogonias.

**Tabla 65. ADEVA para espermatogonias.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	762,89	3	254,30	0,87	0,4976
Error	2350,83	8	293,85		
Total	3113,72	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

La tabla N° 65 se determina que el p-valor (0,4976) es mayor que al nivel de significancia (0,05), es decir que no existe diferencia estadística significativa entre los

tratamientos con relación a los porcentajes de espermatogonias que se encuentran en los túbulos seminíferos a nivel histológico.

### 3.5.2. Porcentaje de espermatozoides a nivel de túbulos seminíferos

**Tabla 66. ADEVA para el porcentaje de espermatozoides.**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	9788,06	3	3262,69	6,44	0,0158**
Error	4054,66	8	506,83		
Total	13842,72	11			

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Al establecer la tabla N° 66 se identifica que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos con relación a los porcentajes de espermatozoides que se encuentran en los túbulos seminíferos a nivel histológico, ya que el p-valor (0,0158) es menor al valor tabulado (0,05).

**Tabla 67. Prueba de Duncan con significancia al 5% para los espermatozoides.**

Tratamiento	Promedio	Rango
3	0,00	A
4	0,00	A
2	47,80	B
1	64,25	C

*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

Respecto a la tabla N° 67, en el test de Duncan con un nivel de significancia del 5%, se observa que algunos de los pares de las medias están generando diferencias mínimas significativas o al menos uno de los tratamientos está creando diferencias, en este caso existen tres rangos de diferencia que están determinadas particularmente entre los grupos T2B T3A, T4A, respecto al T1C, o viceversa. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmuno-esterilizados el T3 y T4 han reducido significativamente el porcentaje de espermatozoides de los túbulos seminífero, estableciendo que la dosis tiene efecto directamente proporcional a la magnitud de sus resultados. Se coincide con lo reportado por BILSKIS R. Y Colaboradores; 2012 en el que reportan sobre los efectos de la inmunización activa contra GnRH en la concentración de testosterona, el libido y número de espermatozoides a nivel

histológico en verracos maduros, los resultados determinan que los niveles de testosterona son menores a 1ng/ml, el libido a disminuido y a nivel histológico no existe presencia de espermatozoides, al comparar con la presente investigación, esta muestra ausencia total de espermatozoides en el T3 y T4, en la que se establece el rango de dosis funcional (300ug/ml a 500ug/ml) para generar efecto de inmunocastración en lagomorfos.

## DISCUSIÓN

Tras los resultados obtenidos en el presente estudio, en relación a los valores hormonales de LH, FSH, testosterona, morfometría testicular y la valoración histológica realizada en colaboración con los Laboratorios de Diagnóstico de AGROCALIDAD, Laboratorio Clínico “SAN FRANCISCO”, Clínica Veterinaria “DINO SUR” y el laboratorio de Diagnóstico Veterinario “ANIMALAB”, presentamos a continuación el análisis de los inmunoesterilizados y grupo control o testigo respectivamente.

En relación a la aplicación del biológico anti-GnRH, se determinó que su efecto en los lagomorfos está establecida estrictamente por la dosis, así refleja, que su acción es a nivel del eje hipotálamo- hipófisis –gonadal, y que a partir de la tercera y cuarta dosis, el sistema inmunitario haya establecido una respuesta inmunitaria alta, por lo tanto los niveles hormonales de concentración sérica de LH, FSH, testosterona empiezan a disminuir. Estos desniveles hormonales se ven reflejados en la disminución de los rangos longitudinales y de diámetro de las gónadas. Así, el mayor efecto se presentó en el grupo de los tratamientos T3 y T4, y con menor efecto en el T1. Por lo tanto, el biológico estaría retrasando el inicio del crecimiento gonadal, la pubertad y madurez sexual. Apoyando a la hipótesis de que existe una ventana de progreso durante el desarrollo testicular, de tal manera que la perturbación de la unidad endocrina a las gónadas durante este período resultan en un deterioro a largo plazo de la función gonadal y del desarrollo de las estructuras testiculares, coincidiendo con lo que reporta (AHMAD J; Y Colaboradores, 2011).

No obstante el conejo doméstico ha perdido su estacionalidad y se reproduce durante todo el año; sin embargo, se encontraron diferencias en los túbulos seminíferos respecto a sus medidas. El diámetro mayor y menor tubular disminuyó considerablemente, estableciendo diferencias entre los grupos de los tratamientos respecto al grupo control. La única capa de células mioides observadas en la pared de los túbulos seminíferos, coincide con lo descrito por Setchell *et al.* (1994), quien además describe varias capas de estas células para el hombre, el carnero y el gato; por el contrario, Heyn (1987), describe para este último una sola capa.

Se analizaron las muestras de los testículos, identificables por su estructura macroscópica conservada, donde puede evidenciarse el inicio de la pubertad de los animales del grupo control por la presencia de células intersticiales. Sin embargo, en los grupos de los tratamientos estas células se muestran atrofiadas y carentes de las típicas gotas citoplasmáticas neutras, indicativas de la presencia de depósitos lipídicos, mientras que su citoplasma se muestran ligeramente pálidas. En el parénquima testicular de los conejos correspondientes a los inmuno-esterilizados T3 y T4, se encontraron principalmente túbulos seminíferos sin lumen, con pocas espermátidas elongadas y sin espermatozoides. Los túbulos seminíferos evidencian atrofia del epitelio germinal, virtualmente inexistente. Persisten las células de Sertoli, identificables por sus núcleos basales característicos. La muestra incluye segmentos de epidídimo, en las que se evidencia ausencia de espermatozoides en la luz tubular y atrofia del aparato ciliar. Según Beilli, 2002 señala que la FSH induce a la célula de Sertoli a producir proteína ligadora de andrógeno que son de gran importancia para el desarrollo de la espermatogénesis y maduración de los espermatozoides, el número de espermatogonias depende del número de células de Sertoli. Al no existir la producción de esta hormona produce muerte de las células germinales y por lo tanto la producción de espermatozoides es muy escaso. Los conejos del T2 presentaron túbulos seminíferos con escaso lumen y linaje espermatogónico disminuido; y los del grupo control T1, en cambio presentaron túbulos seminíferos con lumen, con el linaje espermatogónico completo y abundantes espermatozoides. Además, cada túbulo del

T1 se encontraba limitado por una membrana basal delgada, y una monocapa de células mioides, el mediastino testicular, presento tejido conectivo denso con fibras elásticas, en donde se apreciaron los túbulos que conforman la rete testis, revestida por un epitelio cúbico simple. Así, el intersticio testicular está compuesto de tejido conectivo laxo con escasos fibroblastos. También se observaron vasos sanguíneos y células intersticiales. Según ALDANA y otros en el 2011, indica que la gonadotropina es la responsable de instruir a la glándula pituitaria a iniciar la síntesis de la hormona LH y FSH, y que cuando se bloquee la síntesis de estas hormonas el crecimiento testicular se interrumpe, así como el desarrollo de los túbulos seminíferos.

Con relación a los pesos de los testículos derecho e izquierdo estos demuestran una reducción significativa en el T4 respecto al T3, T2 y T1, considerando como principal factor la dosis de biológico y la correlación con supresión de hormonas LH, FSH y testosterona; así, con concordancia a los autores como DICKSON que en el año 2005 menciona que el tamaño de los túbulos seminíferos está de acuerdo al tamaño de los testículos, y el inicio de la pubertad y madurez sexual.

Es importante señalar que en las observaciones macroscópicas se evidencio atrofia y endurecimiento testicular, así como la pérdida de elasticidad escrotal. Las características morfométricas testiculares se redujeron tras la aplicación del tratamiento de inmuno-esterilización comparado con el grupo control.

Finalmente, podríamos concluir que existe una funcionalidad similar respecto a los receptores proteicos de GnRH, FSH y LH en las especies – Lagomorfos, comparada con la porcina para la que fue creada un biológico de tipo comercial y que se reportan efectos similares a la utilizada en nuestra investigación.

## CONCLUSIONES

- En la presente investigación la aplicación de análogos o antagonistas de la GnRH demostró su efecto modulador -inmunosupresor del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal al incidir sobre los niveles de concentración de las hormonas sexuales LH, FSH y testosterona en lagomorfos.
- Respecto a los constitución del biológico, se estableció la composición química del biológico anti-GnRH, a base de un análogo sintético de la hormona liberadora de Gonadotropinas (PMSG), que se conjugo a la bacterina clostridium toxoide, con un adyuvante (hidróxido de aluminio) para energizar los efectos en las unidades experimentales.
- El biológico generado demuestra ser eficiente en los tratamientos T3 y T4; respecto a la morfometría testicular se evidencia que produce reducción del tamaño de los testículos, hipotrofia testicular, demostrando reducción en el diámetro escrotal y testicular. Así, al análisis microscópico de los tejidos gonadales estos presentaron diferencias en las estructuras, demostrando una reducción del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos, reducción de espermatogonias y ausencia de espermatozoides.

- En relación a la dinámica de concentración de hormonas sexuales masculinas estas presentaron desniveles en su concentración sérica, efecto inmunosupresor generado por las diferentes dosis de biológico aplicado; determinando que los animales del T3 y T4 fueron los que mejor respondieron al tratamiento.

## RECOMENDACIONES

- Con la técnica empleada en el presente estudio (inmuno-esterilización), se recomienda aplicar el biológico anti-GnRH en lagomorfos a una dosis de 300ug/ml a 500ug/ml, con un intervalo de 15 a 21 días para producir un efecto inmunosupresor de hormonas sexuales.
- Posibilitar la implementación de la técnica de inmuno-esterilización en otras especies animales, como los animales de compañía para suprimir su capacidad reproductiva, considerando que no es una técnica invasiva generadora de estrés.
- Realizar estudios acerca de la viabilidad de aplicación del biológico anti-GnRH en hembras, validando los protocolos empleados referentes a dosis, frecuencia y vía de aplicación.
- Continuar con el seguimiento de la presente investigación, y determinar si existe la posibilidad de reversión de los efectos generados por la inmuno-esterilización en los animales inoculados y su efecto en la fertilidad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

### Libros

1. **ALBA, Jorge. 2000.** Reproducción y genética animal. *Reproducción y genética animal*. Primera. Turrialba, Costa Rica : SIC, 2000, 2, págs. 35 -38.
2. **ARCE, Victor, y otros. 20006.** *Endocrinología*. Santiago : Universidad de Santiago de Compostela, 20006. pág. 92. 84-9750-622-7.
3. **ASPINALL, Victoria y O'REILLY, Melanie. 2004.** *INTRODUCCIÓN A LA ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA VETERINARIA*. Zaragoza : Elsevier, 2004. 978-0-7506-8782-9.
4. **ASPINALL, Victoria y OREILLY, Melanie. 2007.** *Introduccion a la Anatomia y Fisiologia Veterinaria*. Madrid : Acribia S,A, 2007. 978-84-200-1091-5.
5. **BACHA, William y BACHA, Linda. 2001.** *Atlas de Histologia Veterinaria*. Buenos Aires : Inter-Medica, 2001. 85-7241-439-8.
6. **BAVARESCO, Aura. 1997.** *Las Técnicas de la Investigación: Manual para la elaboración de tesis, monografías, informes*. Maracaibo : s.n., 1997. 980-232-623-2.
7. **BRUNTON, Laurence, CHABNER, Bruce y KNOLMANN, Björn. 2012.** *Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. Decima Segunda. México : McGraw-Hill, 2012. págs. 1117-1126. 978-0-07-162442-8.
8. **BUNGE, Mario. 2008.** *La investigacion Cientifica*. Barcelona - España : Ariel, 2008.

9. **CARAVACA, y otros. 2003.** *Bases de la producción animal.* España : s.n., 2003. pág. 96. 84-472-0764-1.
10. **CUNNINGHAM, James. 2008.** *Fisiología Veterinaria.* Barcelona : Elsevier España, 2008. págs. 376-377. 978-84-8174-659-4.
11. **DELLMANN, Horst. 1994.** *Histología Veterinaria.* Madrid : Acribia, 1994. 978-842-0007-55-7.
12. **DYCE, K, SACK, W y WENSING, C. 2012.** *Anatomía Veterinaria.* Buenos Aires : Manual Moderno, 2012. 9786074481204.
13. **DYCE, SACK y WENSING. 2007.** *ANATOMÍA VETERINARIA.* México : Manual Moderno, 2007. 978-970-729-253-6.
14. **FLORES, Jesús. 2008.** *Farmacología Humana.* Quinta. Barcelona : Elsevier Masson, 2008. págs. 960-965. 978-84-458-1862-9.
15. **FLORES, Rafael. 2001.** *investigacion educativa y pedagogica.* Bogota : McGraw Hill, 2001.
16. **FORTOUL, Teresa. 2013.** *HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR.* México : McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES S.A., 2013. 978-607-15-0861-4.
17. **GALINA, Carlos y Alberto, SALTIEL. 1991.** *Reproduccion de los Animales Domesticos .* Mexico : Limusa, 1991. 968-18-1954-4.
18. **GARCIA, Sacristan. 1995.** *Fisiologia Veterinaria.* Barcelona : McGRAW-HILL, 1995. 978-84-486-0126-3.
19. **GARTNER, Leslie y HIATT, James. 2008.** *ATLAS COLOR DE HISTOLOGÍA.* Buenos Aires : Panamericana, 2008. 978-950-06-0810-7.
20. **GAZQUEZ, A y BLANCO, A. 2004.** *Tratado de Histologia Veterinaria.* Barcelona : Masson, 2004. 84-458-1413-3.

21. **GAZQUEZ, A y GOMEZ, L. 2009.** *Manual Practico de Histologia Veterinaria.* España : s.n., 2009. 978-84-613-4050-7.
22. **GHEZZI, Marcelo. 2004.** Área de Anatomía de los animales domésticos. [En línea] 2004. [Citado el: 15 de Julio de 2015.] <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Documentos/Anatomia%20I%20y%20II/2011/PDF/GENITAL%20MASCULINO%20ANATOMIA%20II.pdf>.
23. **GOLDSBY, Richard: Kindt Thomas, Osborne, B y Kuby, J. 2004.** *Inmunología.* México : McGraw-Hill Interamericana, 2004. 970-10-4710-9.
24. **HAFEZ. 2000.** *REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES.* México : McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, 2000. pág. 435. 0-683-30577-8.
25. **HAFEZ, E. y HAFEZ, B. 2002.** *Reproduccion e Inseminacion Artificial en Animales.* Mexico DF : McGraw - Hill Interamericana, 2002. 970-10-3719-7.
26. **JENSH, R y FAWCETT, W. 1999.** *Compendio de Histologia.* Madrid : McGraw-Hill, 1999. 84-486-0264-1.
27. **KÖNIG, Horst y LIEBICH, Georg. 2011.** *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2.* Buenos Aires : Panamericana, 2011. 9788498354720.
28. **LACAVE, Martin y SAN MARTIN, Victoria. 2005.** *Atlas Practico de Veterinaria.* Madrid : Diaz de Santos, 2005. 978-8479-78-670-0.
29. **LMADDISON, Jill, PAGE, Stephen y CHURCH, David. 2004.** *Farmacología clínica en pequeños animales.* Buenos Aires : Inter-Médica, 2004. pág. 5. 950-555-275-0.
30. **MATORRAS, P.J y Hernandez.D.Molero. 2008.** *Tratado de reproduccion humana de enfermeria.* Madrid : Medica Panamericana, 2008. 978-84-7903-297-7.

31. **MERCHANT y PACKER. 2000.** *BACTERIOLOGÍA Y VIROLOGÍA VETERINARIA*. Zaragoza : Española, 2000. 84-200-0238-0.
32. **OMS. 2010.** *Biologicos e inmunización situación mundial*. Tercera. Ginebra : s.n., 2010. 978-92-4-356386-2.
33. **PANIAGUA, Ricardo. 2007.** *Citologia e Histologia Vegetal y Animal*. Madrid : McGRAW-HILL, 2007. 978-84-481-5593-3.
34. **PIMIENTA, Julio. 2012.** *Metodologia de la Investigacion*. Mexico : Pearson, 2012. 978-607-32-1027-0.
35. **POOPER, J. 2007.** *Logica de la investigacion cientifica*. Madrid : Tecnos, 2007.
36. **PTASZYNSKA, Mónica. 2007.** *Compendio de Reproducción Animal*. Uruguay. Uruguay : Intervet, 2007.
37. **RAYMOND, R y STANLEY, H. 2012.** *Atlas en Color de Anatomia Veterinaria*. Barcelona : Elsevier, 2012. 978-84-8086-832-7.
38. **REDONDO, Eloy. 2007.** *Atlas práctico de histología veterinaria*. Madrid : s.n., 2007. 978-8477237570.
39. **REECE, W. 2009.** *Fisiologia de los Animales Domesticos*. Madrid : Acribia S.A, 2009. 788-42-0011-349.
40. **SALAZAR, PERATA y PASTOR. 2009.** *Tratado de Psicofarmacología*. Madrid : Panamericana, 2009. págs. 324-326. 978-84-9835-109-5.
41. **SHIVELY, J. 1993.** *Anatomía Veterinaria, Comparada y Clinica*. Mexico : El Manual Moderno S.A, 1993. 0-89096-202-2.
42. **SISSON, Septimus y GROSSMAN, James. 2001.** *Anatomia de los Animales Domesticos*. Barcelona : Masson, 2001. ISBN 84-458-0721-8.

43. **SUMANO, Héctor y OCAMPO, Luis. 2006.** *Farmacología Veterinaria*. Tercera. México : McGraw-Hill Interamericana, 2006. pág. 864. 978-970-10-5696-7.
44. **SWAPAN y SANJAY. 2007.** *MICROBIOLOGÍA BASADA EN LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS*. Madrid : Elsevier, 2007. 0-7216-0630-X.
45. **TIZARD, Ian.R. 2009.** *Introducción a la inmunología veterinaria*. España : Elseiver España. S. L, 2009. 978-84-8086-431-2.
46. **TOTORA, FUNKE y CASE. 2007.** *INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA*. Madrid : Panamericana, 2007. 9789500607407.
47. **VIGO, Universidad de. 2014.** Atlas de Histología Vegetal y Animal. [En línea] 30 de 05 de 2014. [Citado el: 23 de 03 de 2015.] <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/1-proceso.php>.
48. **WELSCH, Ulrich y DELLER, Thomas. 2010.** *HISTOLOGÍA*. Madrid : Panamericana, 2010. 978-607-7743-91-0.
49. **ZUNIÑO, Gonzalo. 2003.** *Nutrición y Alimentación de la Facultad de Veterinaria de la UBA*. Buenos Aires : s.n., 2003. 9685475609213.

#### **Internet**

#### **Artículos**

- a) **ADAGIO, L.M., y Rio, F.J., Hierro, J.A,Lattanzi, L.D.,García, M.G.,Torres, P., Menguelle, P., Meder, A.,Vaquero,P., Wheeler, J.T., Corrada, Y.,Gobello, C. 2013.** *Revista Ciencias Veterinarias. Revista Ciencias Veterinarias*. [En línea] 2013. [Citado el: 28 de Mayo de 2015.] <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v15n1a13adagio.pdf>. ISSN 1515-1883.

- b) **AZMI, Fazren y Abdullah Al Hadi Ahmad Fuaad, Mariusz Skwarczynski y Istvan Toth. 2013.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 3 de Diciembre de 2013. [Citado el: 1 de mayo de 2015.]
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4130256/>. PMC4130256.
- c) **BARRANCO, Jesús. 2010.** Composición farmacéutica utilizando combinaciones de variantes de la hormona liberadora de las gonadotropinas (gnrh ) como inmunógeno . [En línea] 8 de Abril de 2010. [Citado el: 18 de Junio de 2015.] <http://www.google.es/patents/WO2010037352A1?cl=es>.
- d) **BENAVIDES, Gabriela y Andre Ganswindt, Henry Annandale , L Martin Schulman , y Henk J Bertschinger. 2012.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 25 de agosto de 2012. [Citado el: 4 de mayo de 2015.]
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3485135/pdf/1477-7827-10-63.pdf>. 10.1186/1477-7827-10-63..
- e) **BILSKIS, Ronaldas y Neringa Sutkeviciene, Vita Riskeviciene , Aloyzas Januskauskas , Henrikas Zilinskas. 2012.** PubMed. *PuMed*. [En línea] 12 de mayo de 2012. [Citado el: 2 de mayo de 2015.]
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3403930/pdf/1751-0147-54-33.pdf>. PMC3403930.
- f) **BLASCO, Laura, y otros. 2011.** Protocolo largo con análogos de GnRH versus protocolocorto con antagonistas: Existen diferencias en cuanto a los resultados de los ciclos de FIV-ICSI. [En línea] 2011. [Citado el: 6 de Junio de 2015.] <http://www.scielo.cl/pdf/rchog/v76n5/art02.pdf>. 0798-2259.
- g) **BRIOZZO, Graciela, PEREGO, María y MORION, María. 2007.** Uso adecuado del ensayo de gonadotropina coriónica humana en el diagnóstico de embarazo. Sangre u orina. [En línea] 2007. [Citado el: 11 de Junio de 2015.] 1514-9838.

- h) **CAN, Zhang y Bin Wang, and Ming Wang. 2011.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 9 de Enero de 2011. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3024958/>. PMC3024958.
- i) **CHIA, Tse Hsu y Chun-Ting Yuan, Chun-Ting Jen , Tzong Yueh Chen , Chia Po Lin , Jacqueline Whang Peng , y Jaulang Hwang. 2000.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 15 de Julio de 2000. [Citado el: 28 de Mayo de 2015.] <http://cancerres.aacrjournals.org/content/60/14/3701.long>. PMID: 10919636.
- j) **COFFMAN, Robert y Seder, Alan Sher and Robert A. 2010.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 29 de Octubre de 2010. [Citado el: 23 de Mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3420356/>. PMC3420356.
- k) **D'HONDT, y otros. 2014.** Calor seco degradación de obligado buserelina cinética y perfiles de degradación: péptido. [En línea] 2014. [Citado el: 10 de Junio de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24657556>. 24657556.
- l) **DEL SOL, Mariano y VASQUEZ, Bélgica. 2001.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Estudio Morfológico de la Glándula Bulbouretral de Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [En línea] 2001. [Citado el: 29 de 11 de 2014.] [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-98682001000200015&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682001000200015&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0716-9868..
- m) **DUNSHEA, y otros. 2001.** Vaccination of boars with a GnRH vaccine (Improvac) eliminates boar taint and increases growth performance. [En línea] 2001. [Citado el: 14 de Junio de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11721830>. 11721830.
- n) **GEOFFREY, Rolls. 2011.** Scientia. *Microtomía y preparación de la sección en parafina*. [En línea] 29 de 10 de 2011. [Citado el: 09 de 03 de 2015.] [http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img\\_uploads/histology\\_systems/2010/Microtomy\\_booklet\\_spanish\\_online.pdf](http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/histology_systems/2010/Microtomy_booklet_spanish_online.pdf).

- o) **HILBE, M y Jaros P, Ehrensperger F, Zlinszky K, Janett F, Hässig M, Thun R. 2006.** PubMed. *PubMed*. [En línea] US National Library of Medicine National Institutes of Health, Noviembre de 2006. [Citado el: 26 de Mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17209509>. PMID: 17209509.
- p) **KYUNG, Hee Noh y Yeong Min Parque, Hyuk Soon Kim , Tae Heung Kang , Kwon Ho-Canción , Young-Ho Lee , Yeongseon Byeon , Sombrero Nim Jeon , En Duk Jung , Byung Cheol Shin , Kyung-Mi Lee , Seung-Yong Seong , Hee Dong Han ,autor correspondientey Tae Woo Kim. 2014.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 18 de Octubre de 2014. [Citado el: 28 de Mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4201920/>. PMCID: PMC4201920.
- q) **LI, Yu y Zhang Zhong-Colmillo, Chun Xia Jing , y Feng-Lin Wu. 2008.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 7 de abril de 2008. [Citado el: 2 de mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2701535/pdf/WJG-14-2106.pdf>. 1007-9327.
- r) **LIMA, Anabella, y otros. 2008.** Experiencia con el uso de antagonistas de la GnRH en fertilización asistida. [En línea] 2008. [Citado el: 11 de Junio de 2015.] [http://www.samer.org.ar/revista/numeros/2008/n3/2\\_experiencia.pdf](http://www.samer.org.ar/revista/numeros/2008/n3/2_experiencia.pdf).
- s) **MEEUSEN, Els NT y John Walker, Andrew Peters, Paul-Pierre Pastoret y Gregers Jungersen. 2007.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 20 de julio de 2007. [Citado el: 6 de 5 de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1932753/>. PMC1932753.
- t) **PARRA, Roxana, DEL SOL, Mariano. 2002.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Estudios Histológico e Histoquímico del Epidídimo de Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [En línea] 2002. [Citado el: 29 de 11 de 2014.] [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S071698682002000300006&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071698682002000300006&lng=es&nrm=iso). ISSN 0716-9868..

- u) **ROS, Gaspar. 2009.** Olor sexual en la carne de porcino castrado inmunológicamente necesidad de su evaluación sensorial ligada a los factores genéticos que determinan su percepción. [En línea] 2009. [Citado el: 14 de Junio de 2015.]
- <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=12&cad=rja&uact=8&ved=0CCAQFjABOAO&url=http%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F3327312.pdf&ei=jx1qVbfeEsGMNqzsfgK&usg=AFQjCNGS7WbwT3nBbHFudQ9qTxNi4qFIXw&bvm=bv.94455598,d.e>
- v) **SAENZ, L y Neira Carrillo A, Paredes R , Cortés M , Bucarey S , Arias JL. 2009.** PubMed. *PubMed*. [En línea] 18 de Marzo de 2009. [Citado el: 7 de Mayo de 2015.] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=19041932.19041932>.
- w) **SCHENCKE, C, DEL SOL, M. 2003.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Morfología Del Conducto Deferente en el Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [En línea] 2003. [Citado el: 29 de 11 de 2014.]
- [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022003000100003&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022003000100003&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0717-9502..
- x) **VASQUEZ, Bélgica y DEL SOL, Mariano. 2002.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Complejo Prostático en el Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [En línea] 2002. [Citado el: 29 de 11 de 2014.]
- [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-98682002000200010&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682002000200010&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0716-9868. .
- y) **VONO Maria, Marianna Taccone,Paola Caccin,Marilena Gallotta,Giovanna Donvito,Simonetta Falzoni,Emiliano Palmieri,Michele Pallaoro,Rino Rappuoli,Francesco Di Virgilio,cEnnio De Gregorio,Cesare Montecucco,a, and Anja Seubertb. 2013.** PubMed.

*PubMed*. [En línea] 24 de Diciembre de 2013. [Citado el: 28 de Mayo de 2015.]

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3876261/>. PMC3876261.

### **Páginas**

- I. **ABREU, Lauriane, y otros. 2006.** Análogos do GnRH: Bases Moleculares en Aplicações em Reprodução Assistida. [En línea] 2006. [Citado el: 8 de Junio de 2015.]  
[http://www.febrasgo.org.br/site/wp-content/uploads/2013/05/Femina\\_34-6-401.pdf](http://www.febrasgo.org.br/site/wp-content/uploads/2013/05/Femina_34-6-401.pdf).
- II. **AUQUILLA, Adriana y MALDONADO, Celia. 2013.** EL EMPLEO DE LA HCG Y PMSG PARA LA INDUCCIÓN DE LA SUPEROVULACIÓN Y PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA EN TRUCHA ARCO IRIS EN LA ZONA DEL CAJAS. [En línea] 2013. [Citado el: 10 de Febrero de 2016.]  
<http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/363/1/TESIS.pdf>.
- III. **BARROS, María. 2014.** Agonistas versus antagonistas: resultados en FIV e ICSI. [En línea] 2014. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.]  
[http://dspace.sheol.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/29230/3/TFM\\_MariaJesusBarrosSanCristobal.pdf](http://dspace.sheol.uniovi.es/dspace/bitstream/10651/29230/3/TFM_MariaJesusBarrosSanCristobal.pdf).
- IV. **BARZALLO, Marco. 2013.** Evaluación de la gonadotropina coriónica humana (hCG) como reemplazo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el protocolo ovsynch de sincronización en la inseminación a tiempo fijo (IATF) en vacas holstein friesian. [En línea] 2013. [Citado el: 1 de Junio de 2015.]  
<http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5325/1/UPS-CT002766.pdf>.

- V. **BASULTO, Roberto, y otros. 2003.** Efectos de la inmunización contra GnRH sobre la estructura y función testicular en perros adultos. [En línea] 2003. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.]  
<http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2003/20/1/BA002001020-024.pdf>.
- VI. **BRANDAN, Nora. 2002.** Hormonas Hipotalamo-Hipofisarias. [En línea] 2002. [Citado el: 24 de Mayo de 2015.]  
<http://www.uaz.edu.mx/histo/biologia/faiunnear/pdf/hipofisis.pdf>.
- VII. **CARAZO, Belén, y otros. 2013.** Resultado positivo de gonadotropina coriónica humana. Consideraciones diagnósticas. [En línea] 2013. [Citado el: 12 de Junio de 2015.] <http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobsmex/gom-2013/gom135h.pdf>. 0300-9041.
- VIII. **COSMOS. 2012.** Microtomos para cortes en parafina. [En línea] 19 de 07 de 2012. [Citado el: 02 de 02 de 2015.]  
<http://www.cosmos.com.mx/producto/3d74/microtomos-para-cortes-en-parafina>.
- IX. **DRUG, BC Cancer Agency Cancer. 2007.** Buserelin. [En línea] 2007. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.] [http://www.bccancer.bc.ca/drug-database-site/Drug%20Index/Buserelin\\_monograph\\_1March2012.pdf](http://www.bccancer.bc.ca/drug-database-site/Drug%20Index/Buserelin_monograph_1March2012.pdf).
- X. **ELIARSSON, S. y K. Andersson, M. Wallgren, K. Lundström, H. Rodriguez-Martinez. 2008.** Theriogenology. *Theriogenology*. [En línea] Animal Production, 29 de Abril de 2008. [Citado el: 26 de Mayo de 2015.] [http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X\(08\)00522-0/fulltext](http://www.theriojournal.com/article/S0093-691X(08)00522-0/fulltext). DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.07.022>.
- XI. **FASCIITIS. 2007.** EL ALUMINIO Y LAS BIOLOGICOS. [En línea] 22 de Marzo de 2007. [Citado el: 11 de Febrero de 2016.]

<http://es.myofasciitis.com/Contenu/Divers/ResumenSintesiEstadoConocimientoCientifico.pdf>.

- XII. **FERNÁNDEZ, Néstor. 2014.** Infogranja. *Organos Genitales del Conejo*. [En línea] 11 de 08 de 2014. [Citado el: 04 de Marzo de 2015.] [http://www.infogranja.com.ar/del\\_macho1.htm](http://www.infogranja.com.ar/del_macho1.htm).
- XIII. **FIALLOS, Hugo. 2009.** Proyecto de factibilidad para el establecimiento de una empresa productora de conejos en la sierra – centro del Ecuador. [En línea] 2009. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1940>.
- XIV. **FRANCO, GIRALDO y PATIÑO. 2004.** PAPEL DE LOS ADYUVANTES EN LA MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE. [En línea] 3 de Septiembre de 2004. [Citado el: 11 de Febrero de 2016.] <http://www.redalyc.org/pdf/2950/295025895009.pdf>.
- XV. **GARNICA, Froilan. 2012.** EFECTO DE LA GONADOTROFINA CORIÓNICA EQUINA (eCG) EN LA OVULACIÓN CON PROTOCOLOS DE IATF EN VACAS HOLSTEIN POSPARTO. [En línea] 2012. [Citado el: 10 de Febrero de 2016.] <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/406/1/TESIS.pdf>.
- XVI. **HISTOTECHNOOLOGY. 2010.** Tecnología Médica Mención Morfofisiopatología y Citodiagnóstico. [En línea] 24 de 07 de 2010. [Citado el: 17 de 05 de 2015.] <http://morfoudec.blogspot.com/2008/11/variables-penetracin-fijacin-segn.html>.
- XVII. **JAUSET, Jordi. 2000.** *La investigacion de audiencias y fundamentos estadisticos*. Paidós España : s.n., 2000.
- XVIII. **LEICA. 2012.** Precisión de corte: Vibratomo SeriesLeica. [En línea] 12 de 11 de 2012. [Citado el: 07 de 03 de 2015.]

<http://www.leicabiosystems.com/es/eventos-y-educacion/noticias/detalles-de-las-noticias/article/cutting-edge-precision-leica-vibratome-series/>.

- XIX. **LÓPEZ, Eric. 2009.** La Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) y su papel en la reproducción bovina. [En línea] Julio de 2009. [Citado el: 24 de Mayo de 2015.]

<http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/143/1/EricLopezLanda.pdf>.

- XX. **MEDIETA, Juan. 2013.** Crianza y engorde de cerdos bajo dos técnicas de castración. [En línea] 2013.

<http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/542/1/T-UTEQ-0079.pdf>.

- XXI. **ÓPEZ, Maria. 2008.** Calidad folicular: agonistas versus antagonistas de la GnRH en una población de buen pronóstico. [En línea] 2008. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.] <http://hera.ugr.es/tesisugr/17569461.pdf>.

- XXII. **OMPI y INTELECTUAL, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA PROPIEDAD. 2010.** Solicitud internacional publicada en virtud del tratado de cooperación materia de patentes. *Composición farmacéutica utilizando combinaciones de variantes de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) como inmunógeno.* [En línea] 8 de Abril de 2010. [Citado el: 30 de Mayo de 2015.]

[https://www.lens.org/images/patent/WO/2010037352/A1/WO\\_2010\\_037352\\_A1.pdf](https://www.lens.org/images/patent/WO/2010037352/A1/WO_2010_037352_A1.pdf).

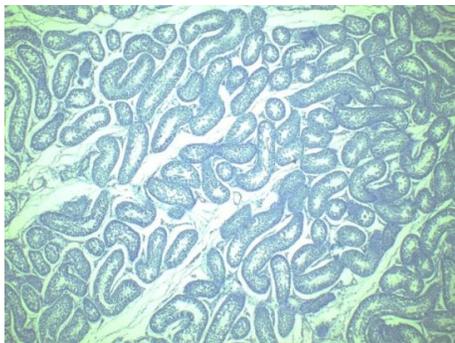
- XXIII. **PANEQUE, Armando. 2013.** Compuestos inorgánicos como adyuvantes de biológicos. [En línea] 2013. [Citado el: 30 de Mayo de 2015.] <http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2013/30/4/BA003004RV243-249.pdf>.

- XXIV. **PEÑA, Nely. 2006.** Biológico Anti-GnRH: Una Alternativa a la Castración de Cerdos. [En línea] 13 de Noviembre de 2006. [Citado el: 5 de Julio de 2015.] [http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/s7\\_22.html](http://www-lab.biomedicas.unam.mx/cistimex/s7_22.html).
- XXV. **PFIZER. 2010.** Pfizer Animal Health Company. *INNOSURE®*. [En línea] 2010. [Citado el: 30 de 11 de 2014.] <http://www.innosure.com.ec/sites/improvac/es-EC/Pages/technicalinformation.aspx>.
- XXVI. **POTTER, Andrew y MANNS, John. 2006.** Quimeras de GnRH-leucotoxina. [En línea] 2006. [Citado el: 16 de Junio de 2015.] [http://www.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/24/76/ES-2247637\\_T3.pdf](http://www.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/24/76/ES-2247637_T3.pdf). 2247637.
- XXVII. **REVELO, María. 2014.** Efecto modulador de agonistas de GnRH en los procesos de apoptosis en las células de la granulosa del ovario de la gallina doméstica (*Gallus gallus domesticus*). [En línea] 2014. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.] <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1474/1/T-SENESCYT-00608.pdf>.
- XXVIII. **RODRÍGUEZ, Héctor. 2000.** Aspectos Reproductivos en los conejos. [En línea] 2000. [Citado el: 16 de Junio de 2015.] <http://www.uprm.edu/agricultura/sea/publicaciones/AspectosReproductivosConejos.PDF>.
- XXIX. **SAGBAY, Cristhian. 2012.** Efecto de la gonadotropina corionica equina (eCG) aplicada al momento de retirar el dispositivo de progesterona (P4) sobre el porcentae de preñez en vacas holstein post-parto. [En línea] 2012. [Citado el: 1 de Junio de 2015.] <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/2419/15/UPS-CT002426.pdf>.

- XXX. **SPIEGEL, R. 2014.** Wikipedia. *Analisis de la Varianza*. [En línea] 19 de Febrero de 2014. [Citado el: 22 de Febrero de 2015.]  
[http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis\\_de\\_la\\_varianza](http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_de_la_varianza).
- XXXI. **VELASCO, Patricia. 2005.** *Tecnicas de Esterilizacion en Pequeños Animales*. [En línea] 2005. [Citado el: 9 de 12 de 2014.]  
[http://www.uco.es/organiza/departamentos/anatomia-y-anat-patologica/peques/curso01\\_05/esteriliza1.pdf](http://www.uco.es/organiza/departamentos/anatomia-y-anat-patologica/peques/curso01_05/esteriliza1.pdf).
- XXXII. **WIKILIBROS. 2015.** Fijadores Histologicos. [En línea] 17 de 03 de 2015. [Citado el: 06 de 04 de 2015.]  
[https://es.wikibooks.org/wiki/Histolog%C3%ADa/Preparaci%C3%B3n\\_de\\_cortes\\_histol%C3%B3gicos](https://es.wikibooks.org/wiki/Histolog%C3%ADa/Preparaci%C3%B3n_de_cortes_histol%C3%B3gicos).

## ANEXOS Y GRÁFICOS

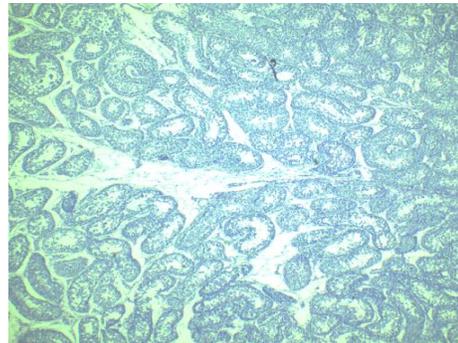
**Anexos 1. Placa histológica testigos (10x)**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

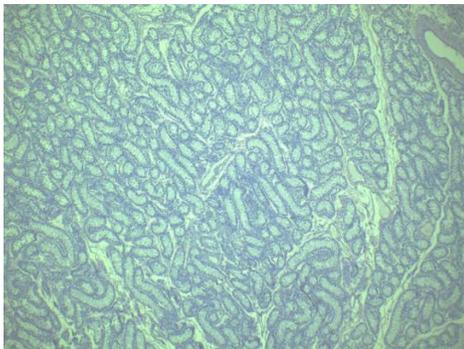
**Anexos 2. Placa histológica del tratamiento 2 (10x)**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

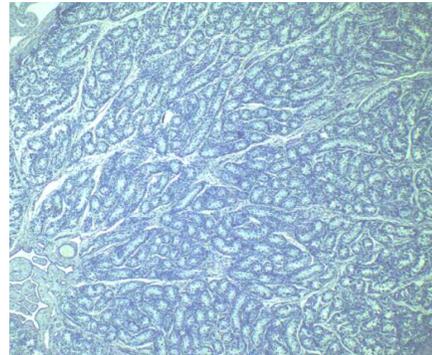
**Anexos 3. Placa histológica del tratamiento 3 (10x)**



*FUENTE: Directa*

*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

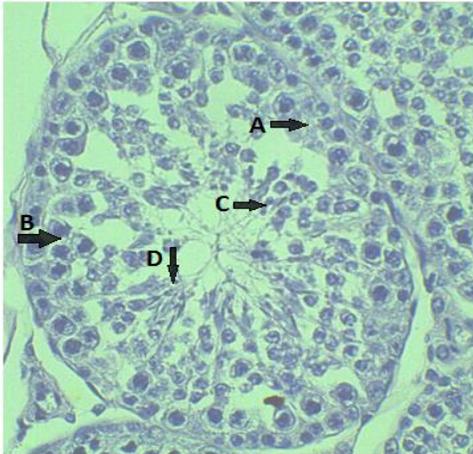
**Anexos 4. Placa histológica del tratamiento 4 (10x)**



*FUENTE: Directa*

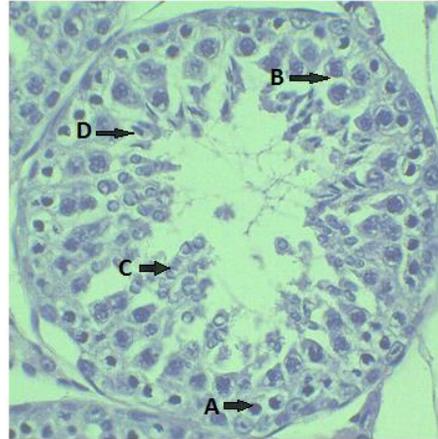
*Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016*

**Anexos 5. Placa histológica del testigo (40x)**



FUENTE: Directa

**Anexos 6. Placa histológica del tratamiento 2 (40X)**

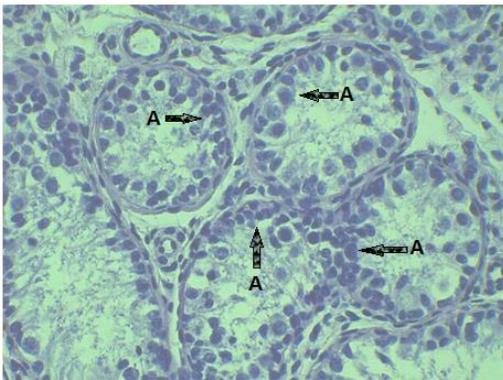


FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016    Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

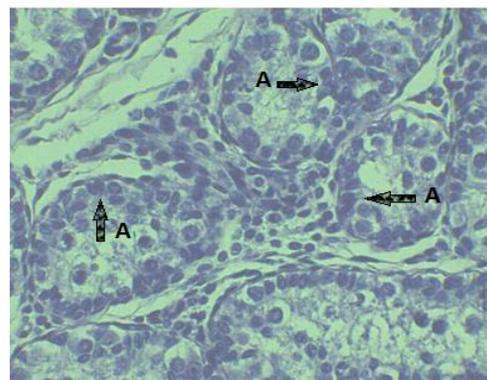
Corte histológico de túbulos seminíferos. Se observa los elementos celulares del epitelio seminal: espermatogonias (A), espermatoцитos (B), espermátides (C), espermatozoides (D).

**Anexos 7. Placa histológica del tratamiento 3 (40X)**



FUENTE: Directa

**Anexos 8. Placa histológica del tratamiento 4 (40X)**

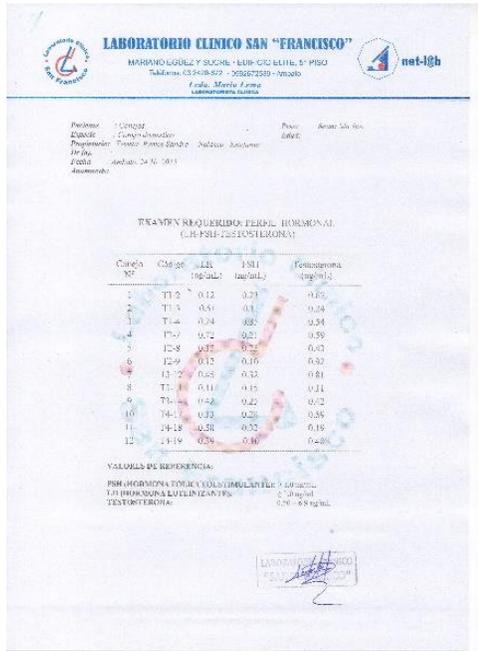


FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016    Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

Corte histológico de túbulos seminíferos. Se observa un elemento celular en el epitelio seminal: espermatogonias (A). ausencia de espermatoцитos, espermátides y espermatozoides.

## Anexos 9. Perfil Hormonal Pre-Experimentación



FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefanía; 2016  
 (Laboratorio Clínico San Francisco)

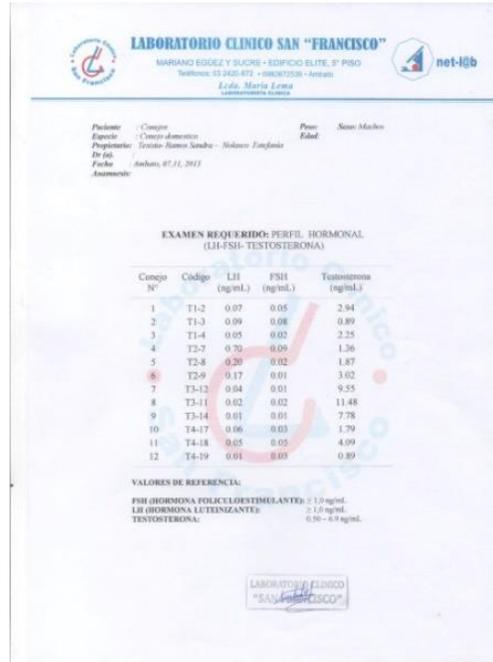
## Anexos 11. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Segunda Dosis)



FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefanía; 2016  
 (Laboratorio Clínico San Francisco)

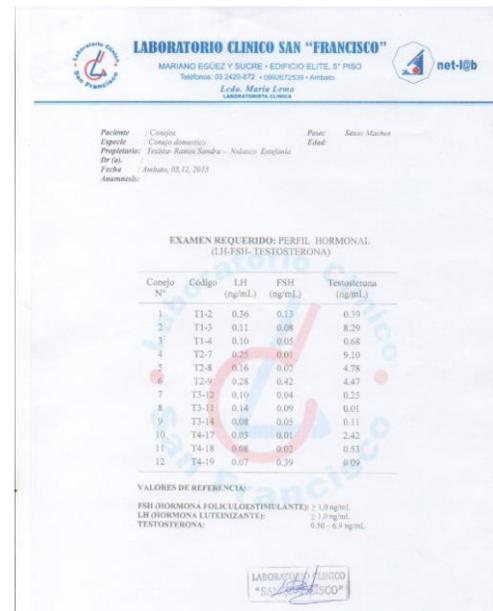
## Anexos 10. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Primera Dosis)



FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefanía; 2016  
 (Laboratorio Clínico San Francisco)

## Anexos 12. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Tercera Dosis)



FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefanía; 2016  
 (Laboratorio Clínico San Francisco)

### Anexos 13. Perfil Hormonal Post-Experimentación (Cuarta Dosis)

**LABORATORIO CLINICO SAN "FRANCISCO"**  
 MARIANO EGÓRZ Y SUÑER - EDIFICIO ELITE, 5° PISO  
 Telefono: 02 260 412 - 098670338 - Avenida  
 Lda. María Lema  
 Laboratorio Clínico

Paciente: Conejos  
 Especie: Conejo domesticado  
 Proprietario: Tereza Ramos-Sandoz - Valencia Estefania  
 Dr. (a):  
 Fecha: 28.12.2013  
 Insumos:

Sexo: Machos  
 Edad:

**EXAMEN REQUERIDO: FERTIL. HORMONAL (LH-FSH-TESTOSTERONA)**

Conejo N°	Código	LH (ng/mL)	FSH (ng/mL)	Testosterona (ng/mL)
1	T1-2	0.00	0.00	13.35
2	T1-3	0.01	0.00	0.20
3	T1-4	0.02	0.03	11.89
4	T2-7	0.01	0.02	3.51
5	T2-8	0.03	0.07	0.03
6	T2-9	0.09	0.06	2.92
7	T3-12	0.04	0.00	0.04
8	T3-11	0.01	0.01	0.01
9	T3-14	0.02	0.04	0.00
10	T4-17	0.06	0.01	1.79
11	T4-18	0.03	0.01	0.43
12	T4-19	0.00	0.00	0.00

VALORES DE REFERENCIA:  
 FSH (HORMONA FOLICULOESTIMULANTE): 2.10 ng/mL  
 LH (HORMONA LUTEALIZANTE): 2.10 ng/mL  
 TESTOSTERONA: 0.50 - 6.50 ng/mL

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania;  
 2016  
 (Laboratorio San Francisco)

### Anexos 14. Resultados del Diámetro Mayor y Menor de los Túbulos Seminíferos

**LABORATORIO DE LA DIRECCIÓN DEL DIAGNÓSTICO ANIMAL**  
 Vía Independencia, km. 10 y 100 al sur, Quito (B1 10137) - Ecuador - 1101  
 Teléfono: 02 225 82110 - 099125 888  
 B1 0258 EL AVANZADO

Informe N°: 14-16-16-001  
 Fecha emisión Informe: 16/12/2016

Nro.	ID/ANIL/TRA	Código del laboratorio	Diámetro menor (µm.)	Diámetro mayor (µm.)
1	T1-7	DA-00111-33312	124.00	187.00
2	T1-3	DA-00111-33312	112.00	207.00
3	T2-8	DA-00112-33314	144.00	187.00
4	T2-7	DA-00112-33314	140.00	179.00
5	T2-8	DA-00112-33314	140.00	179.00
6	T2-9	DA-00112-33314	140.00	179.00
7	T3-11	DA-00113-33317	140.00	213.00
8	T3-12	DA-00113-33317	84.00	114.00
9	T3-14	DA-00113-33317	76.00	106.00
10	T4-17	DA-00114-33321	80.00	106.00
11	T4-18	DA-00114-33321	80.00	106.00
12	T4-19	DA-00114-33321	74.00	106.00

Límite de referencia: NA  
 Análisis por: Dr. Nelson Cáceres Solórzano  
 Observaciones:

Dr. Nelson C. Cáceres Solórzano  
 Responsable de laboratorio de Patología (E)

*Nota: El resultado corresponde únicamente a la muestra entregada por el cliente en esta fecha. Toda solicitud de reproducción caso a caso se debe informar en autolectura de laboratorio.*

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania,  
 2016  
 (AGROCALIDAD)

### Anexos 15. Resultados del % de Espermatogonias y Espermatozoides a nivel Histológico

**LABORATORIO DE LA DIRECCIÓN DEL DIAGNÓSTICO ANIMAL**  
 Vía Independencia, km. 10 y 100 al sur, Quito (B1 10137) - Ecuador - 1101  
 Teléfono: 02 225 82110 - 099125 888  
 B1 0258 EL AVANZADO

Informe N°: LH-16-100-002-024  
 Fecha emisión Informe: 15/02/2016

**DATOS GENERALES**

Origen: Unión de Conejos  
 Proprietario: Unión de Conejos en Cabaña  
 Nombre del paciente: NA  
 Sexo: Machos  
 Fecha de nacimiento: 06/07/2015  
 Fecha de inicio del análisis: 02/02/16

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS**

Unión de Conejos en Cabaña

Nro.	ID MUESTRA	Código del laboratorio	Espermatogonias (%)	Espermatozoides (%)
1	T1-2	DA-00112-33312	48	40.78
2	T1-3	DA-00112-33312	81	51.67
3	T1-4	DA-00112-33314	88.3	102
4	T2-7	DA-00112-33314	83.60	71.19
5	T2-8	DA-00112-33314	100	52.90
6	T2-9	DA-00112-33314	80.00	3.32
7	T3-11	DA-00113-33317	92.7	3
8	T3-12	DA-00113-33317	50.24	0
9	T3-14	DA-00113-33317	35.89	0
10	T4-17	DA-00114-33321	45.65	0
11	T4-18	DA-00114-33321	37.84	0
12	T4-19	DA-00114-33321	88.30	0

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania;  
 (AGROCALIDAD)

### Anexos 16. Ficha técnica del biológico anti-GnRH

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO "ANIMALAB CIA. LTDA."**  
 Dirección: Av. Pablo Guzmán y Mariana de Jesús  
 Teléfono: 02 22314375 / Cel: 0984 484 385 / 0991 884 371 - Mail: c.c.c.c.animalab@hotmail.com  
 Machachi - Ecuador

**FICHA TÉCNICA**  
 Biológico anti-GNHR

Composición cualitativa y cuantitativa

Cada vial (2 ml) contiene:

Proteína anti-GNHR de origen de la Glandulina (PMSG) 50 mg  
 Toxina del Clostridium septicum 1x10<sup>7</sup> ppm (total del  
 cloruro de sodio) 1x10<sup>7</sup> ppm (total del  
 aluminio) 10 mg (Empaquetado)  
 Conservación: en refrigeración (2-8°C) o a 15°C  
 Conservación: en refrigeración (2-8°C) o a 15°C  
 Conservación: en refrigeración (2-8°C) o a 15°C

Indicaciones y composición del envase

Proceso de producción de 100 ml de solución con 10 mg de proteína y 10 mg de aluminio.

FUENTE: Directa

Elaborado por: RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania,  
 ("ANIMALB")

## Anexos 17. Manejo de Instalaciones



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Control sanitario limpieza y desinfección de las jaulas, con un amonio-cuaternario (virukill), limpieza y desinfección de las jaulas.*

## Anexos 18. Aplicación de la biológico anti-GnRH



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Aplicación del biológico anti-GnRH en los tratamientos 2, 3 y 4, vía subcutánea.*

## Anexos 19. Toma de muestras sanguíneas



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Transporte de muestra sanguínea*

## **Anexos 20. Extracción quirúrgica de los testículos**



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Extracción de los testículos mediante la técnica de castración pre-escrotal con una sola incisión.*

## **Anexos 21. Medición de los testículos**



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Medición del largo y ancho del testículo en cm.*

## **Anexos 22. Conservación de los testículos**



**FUENTE:** Directa

**Elaborado por:** RAMOS, Sandra; NOLASCO, Estefania, 2016

*Conservación con formol de las muestras testiculares*