



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS

NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH
COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS
SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de
Médico Veterinario Zootecnista

Autor:

Polo Calva Diana Fernanda

Director:

Dr. Gutiérrez Reinoso Miguel Ángel

LATACUNGA - ECUADOR

MARZO – 2017

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, DIANA FERNANDA POLO CALVA declaro ser autora del presente proyecto de investigación: **“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”** siendo DR. MIGUEL ÁNGEL GUTIÉRREZ tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

.....

Diana Fernanda Polo Calva

C.I. 172162637-0

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de Polo Calva Diana Fernanda, identificada/o con C.I. 172162637-0 de estado civil soltera y con domicilio en Quito, a quien en lo sucesivo se denominará LA CEDENTE; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará EL CESIONARIO en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES:

CLÁUSULA PRIMERA.- LA CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado del PROYECTO INVESTIGATIVO la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- ABRIL 2011- FEBRERO 2017

Aprobación HCA.-

Tutor.- Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Tema: “EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”

CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA.- Por el presente contrato, LA CEDENTE autoriza AL CESIONARIO a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato LA CEDENTE, transfiere definitivamente AL CESIONARIO y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.

b) La publicación del trabajo de grado.

c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA.- El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que EL CESIONARIO no se halla obligado a reconocer pago alguno en igual sentido LA CEDENTE declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA.- El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.- Por medio del presente contrato, se cede en favor DEL CESIONARIO el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo LA CEDENTE podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.- EL CESIONARIO podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de LA CEDENTE en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA.- El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA.- En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA.- Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga.

.....

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CEDENTE

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título:

“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”, de Diana Fernanda Polo Calva, de la carrera de Medicina Veterinaria considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Consejo Directivo de la Facultad De Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, Marzo 2017

.....
El Tutor

Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

C.I. 050223662-3

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el o la postulante: Diana Fernanda Polo Calva con el título de Proyecto de Investigación: “EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS” han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

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

Latacunga, Marzo 2017

Para constancia firman:

Lector 1 (Presidente)
Nombre: Dr. Rafael Garzón
CC: 0501097224

Lector 2
Nombre: MVZ. Cristina Bejarano
CC: 1802458651

Lector 3
Nombre: MVZ. Paola Lascano
CC: 0502917248

AGRADECIMIENTO

A mí querida institución Universidad Técnica de Cotopaxi por formarme durante estos años de estudio y permitirme alcanzar esta meta tan anhelada.

A mi tutor Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso, quiero expresar mi más sincero agradecimiento por su guía, dedicación, amistad y comprensión, brindada en la realización satisfactoria de este trabajo de graduación.

A la Dra. Catalina Ortiz López, por brindarme su amistad, compartir conocimientos y permitir el éxito en este trabajo de investigación.

A la institución pública privada Laboratorio Clínico “ANIMALAB” y al MVZ. Edison Sánchez, gracias a su apoyo y colaboración, me han permitido desarrollar el presente trabajo de investigación, en la realización de la fase de laboratorio.

A los propietarios de cada uno de los perros que formaron parte de esta investigación, gracias por su apoyo y confianza para la ejecución de este trabajo.

A mis familiares y amigos que siempre estuvieron apoyándome y dándome fuerzas a culminar con éxito mis estudios para mi vida profesional.

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por darme la vida, salud, sabiduría y fortaleza, por guiarme y poner las personas indicadas en el momento justo, en el camino de mí meta a alcanzar.

A mi madre Blanca Calva Vega a quien admiraré toda mi vida, por ser madre y padre a la vez, ser mi pilar y darme fuerzas cada día, y ser la formadora de una persona de bien.

A mi tío Eduardo Calva Vega, por apoyarme incondicionalmente, por sus consejos de sabiduría y por animarme en lograr mis propósitos en la vida.

Diana Fernanda Polo Calva

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

”EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”

Autor: Diana Polo

RESUMEN

El estudio del presente experimento fue evaluar los efectos de la aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores de inmunosupresión y de la dinámica hormonal, morfometría testicular y su incidencia en la histología gonadal. Se seleccionaron 8 caninos machos de diferentes razas y en edades de entre 1 a 10 años, que fueron ubicados en dos grupos experimentales. Del tratamiento 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 Inmunocastrados consistió en aplicar a cada uno de los individuos 1 inoculación a una misma dosis (2ml) del biológico respectivamente por vía subcutánea,. Se analizó LH, FSH y Testosterona antes, 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 t de Student para detectar la existencia de diferencias significativas entre las medias de una determinada variable cuantitativa en dos grupos de datos. En relación a la dinámica de concentración de hormonas sexuales masculinas FSH, LH y testosterona estas presentaron ligeros desniveles en su concentración sérica; sin embargo, para generar el efecto es necesario una segunda inoculación, se estableció que el canis lupus familiares es dosis dependiente y su frecuencia de aplicación es determinante para generar efecto modulador del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal; así, la vacuna demostraría su efecto a partir de la segunda dosis. Respecto a la morfometría testicular se evidencia una reducción muy ligera del tamaño de los testículos, escasa hipotrofia testicular y de diámetro testicular. Al análisis microscópico se observa muy pocas diferencias de hipotrofia, casi nula reducción del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos. 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: hormonas sexuales, biológico anti-GnRH, morfometría, histología.

ABSTRACT

"CONSEQUENCE OF THE APPLICATION OF GNRH ANALOGOUS OR ANTAGONISTS AS A MODULATED OF IMMUNOCASTRATION OF SEXUAL HORMONES IN CANIS LUPUS FAMILIARIS"

The study of the present felt to evaluate the application of GnRH analogs or antagonists as immunosuppressive modulated effects, also hormonal dynamics, testicular morphometry and its incidence in gonadal histology. Eight male canines were selected to different races and their ages between 1 and 10 years, divided in two experimental groups. From the treatment, blood samples were obtained before each application of the biologic anti-GnRH for hormonal analysis of LH, FSH, and testosterone, in addition to the measurement of testicular morphometry and histology. The treatment of the immunocasts consisted in applying to each of the individuals an inoculation at the same dose (2ml) of the biological respectively by the subcutaneous route. LH, FSH and Testosterone were analyzed before and after application of the biological in the treatment group and the control group. In addition, gonadal tissue samples were collected for histopathological analysis. For the interpretation the results of the experiment, statistical t student analysis was used to detect the existence of significant differences between the means of a given quantitative variable in two groups of data. In relation to the concentration dynamics of male sex hormones FSH, LH and testosterone those showed slight differences in their serum concentration. However, to generate the effect a second inoculation is necessary, established that the familiar canis lupus is dose dependent and its frequency of application is determinant to generate modulating effect of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis; Thus, the vaccine would demonstrate its effect from the second dose. Talking about testicular morphometry, a very slight reduction in testicle size, low testicular hypotrophy and testicular diameter is evident. Microscopic analysis shows very few differences in hypotrophy, little reduction in the major and minor diameter of the seminiferous tubules. Finally, the conclusion of the research present the application of analogues or antagonists of GnRH determines a modulating effect -immunosuppressive of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis by affecting the concentration levels of the sex hormones LH, FSH and testosterone with respect to the protein receptors.

Key words: sex hormones, biologic anti-GnRH, morphometry, histology

INDICE DE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	vii
AGRADECIMIENTO	viii
DEDICATORIA.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi

INDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	3
4.1 Beneficiarios directos:	3
4.2 Beneficiarios indirectos:	3
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
6. OBJETIVOS:	5
6.1 General.....	5
6.2 Específicos	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	7
8.1 Clasificación taxonómica del perro	7
8.2 Anatomía testicular	7
8.2.1 Estructura gonadal.....	8
8.2.2 Estructura del testículo	8
8.2.3 Histología testicular.....	10
8.3 Revisión de la fisiología testicular.....	12
8.3.1 Espermatogénesis.....	12
8.3.2 Testosterona	12
8.3.3 Eje hipotalámico-hipofisario-gonadal	13
8.3.4 Hormona liberadora de gonadotropina (gnrh).....	14
8.4 Mecanismo de acción de los análogos de la gnrh.....	16
8.4.1 Agonistas de la gnrh	16

8.4.2	Antagonistas de la gnrh	17
8.4.3	Acetato de buserelina:	18
8.4.4	Leuprorelina:	18
8.4.5	Cetrorelix:.....	18
8.5	Métodos de control de población	19
8.5.1	Técnicas quirúrgicas.....	19
8.5.2	Métodos no quirúrgicos de anticoncepción en perros.....	20
8.5.3	Métodos anticonceptivos químicos en machos.	20
8.6	Inmunocastración.....	21
8.6.1	Inmunocastración en porcinos.....	21
8.6.2	Inmunocastración en bovinos.....	22
8.6.3	Inmunocastración en camélidos.	22
8.6.4	Inmunocastración en animales de fauna silvestre.	22
8.6.5	Inmunocastración en felinos.....	23
8.6.6	Inmunocastración en caninos.	23
8.7	Innosure (péptido sintético análogo del gnrh conjugado con toxoide de difteria) solución inyectable para cerdos	24
8.7.1	Acción del innosure (improvac®).....	24
8.7.2	Contenido del innosure.....	25
8.7.3	Almacenamiento:	25
8.7.4	Administración:.....	25
8.8	Efectos de la vacunación en cerdos	26
8.9	Marco referencial	26
9.	PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS:.....	28
9.1	Hipótesis alternativa	28
9.2	Hipótesis nula	28
10.	METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:.....	29
10.1	Descripción de la metodología	30
10.1.1	Toma de muestra de sangre:	30
10.1.2	Determinación del tamaño testicular:	31

10.1.3 Aplicación del péptido sintético análogo del GnRH conjugado con toxoide de difteria	32
11. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS:	32
11.1 Hormona lh	32
11.2 Hormona folículo estimulante.....	38
11.3 Hormona testosterona	43
11.4 Inmunoglobulina IgG.....	48
12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS):.....	57
13. PRESUPUESTO DEL PROYECTO:	58
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	59
14.1 Conclusiones.....	59
14.2 Recomendaciones	59
15. BIBLIOGRAFIA.....	60
16. ANEXOS.....	68

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del perro	7
Cuadro 2. Testosterona	13
Cuadro 3. Esquema de animales experimentales (canis lupus familiaris).....	29
Cuadro 4. Variables e Indicadores.....	30
Cuadro 5. Niveles de Concentración Hormonal en Canis lupus familiaris (LH, mUI/ml)	32
Cuadro 6. Hormona Folículo Estimulante.....	38
Cuadro 7. Testosterona ng/ml.....	43
Cuadro 8. Niveles de Concentración de inmunoglobulinas IgG mg/ml.....	48
Cuadro 9. Morfometría testicular	50

INDICE DE TABLA

Tabla 1. Pre vacuna vs. Post vacuna.....	34
Tabla 2. Pre vacuna vs. Grupo control antes	35
Tabla 3. Pre vacuna vs. Grupo control después.....	36
Tabla 4. Grupo control antes vs. Grupo control después.....	37
Tabla 5. Pre vacuna vs. Post vacuna.....	39
Tabla 6. Pre vacuna vs. Grupo control antes	40
Tabla 7. Pre vacuna vs. Grupo control después.....	41
Tabla 8. Grupo control antes vs. Grupo control después.....	42
Tabla 9. Pre vacuna vs. Post vacuna.....	44
Tabla 10. Pre vacuna vs. Grupo control antes	45
Tabla 11. Pre vacuna vs. Grupo control después.....	46
Tabla 12. Grupo control antes vs. Grupo control después.....	47
Tabla 13. Pre vacuna vs. Post vacuna.....	49
Tabla 14. Largo del testículo derecho - pre vacuna vs post vacuna	51
Tabla 15. Largo del testículo izquierdo - pre vacuna vs post vacuna.....	52
Tabla 16. Ancho del testículo derecho - pre vacuna vs post vacuna	53
Tabla 17. Ancho del testículo izquierdo - pre vacuna vs post vacuna.....	54

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Esquema Estructura del Testículo	10
Gráfico 2. Espermiogénesis	11
Gráfico 3. Esquema de la estructura de la hormona GnRH.....	15
Gráfico 4. Niveles de Concentración Hormonal en Canis lupus familiaris (LH, mUI/ml)....	33
Grafico 5. Hormona Folículo Estimulante	38
Grafico 6. Testosterona ng/ml	43
Grafico 7. Niveles de Concentración de inmunoglobulinas IgG mg/ml	48
Grafico 8. Morfometría testicular	50

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”

Fecha de inicio:

ABRIL 2016

Fecha de finalización:

FEBRERO 2017

Lugar de ejecución:

Pichincha - Quito - Valle de los Chillos - San José del Valle – Centro Médico Veterinario Zoo Pets

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Medicina Veterinaria

Área de Conocimiento: Agricultura

Línea de investigación: Salud Animal

Sub líneas de investigación de la carrera: Salud Pública y Epidemiología

Equipo de trabajo: Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso (Anexo 2)

Coordinador del Proyecto: Diana Fernanda Polo Calva (Anexo 3)

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Existe actualmente a nivel de la ciudadanía la preocupación por su calidad de vida y el bienestar de los animales de compañía, como consecuencia de una serie de efectos negativos producidos por la carencia de cuidados y responsabilidad frente a la tenencia o tuición de un animal por parte de las personas. Esto ha llevado a conflictos al interior de diversos grupos sociales, que buscan ver alternativas de solución que mitiguen estos inconvenientes. Por lo tanto, el proyecto se basa en la aplicación del bilógico anti-GnRH a los caninos (perros domésticos), determinando las concentraciones hormonales, análisis de la morfología testicular e histología comprobando los efectos de la inmucastración, posibilitando su utilización como un método de control de la reproducción y de su reactivación.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En los momentos actuales la fauna urbana es una responsabilidad común de las instituciones locales como los Municipios, distritos etc., tanto en el contexto mundial y regional. Por lo tanto, las personas naturales como las instituciones juegan un rol importante en el control y manejo de la población canina. Así, los índices que determinan la sobrepoblación de caninos callejeros, acusa una falta de sistemas eficientes para el control; así como los índices de la natalidad aumentan considerablemente año tras año. (JÁCOME, 2013)

En tal sentido, la castración quirúrgica ha sido considerada una técnica convencional, pero que es generadora de dolor, traumatismo, estrés, y que requiere cuidados post-quirúrgicos del paciente, generando un costo relativamente alto. En este ámbito, la castración química ha ido tomando ímpetu como una alternativa a la castración quirúrgica, debido a que se podría considerar como un proceso no invasivo, económico y de fácil aplicación, como alternativa de control de la población callejera. (BASULTO R. , 2003)

Si bien existen actualmente, numerosas opciones contraceptivas para la hembra canina; en los caninos machos, no existen protocolos farmacológicos eficaces para evitar la concepción. Muchas drogas han sido usadas previamente en otras especies, y solo unas pocas, son comercializadas o aprobadas para su uso en caninos. Algunos de los nuevos compuestos que se han usado en tratamientos de fertilidad, contracepción y enfermedades dependientes de las hormonas sexuales son los antiestrógenos. Los antiestrógenos son un grupo farmacológico

que inhiben o modifican la acción de los estrógenos. Algunos actúan inhibiendo su síntesis como los análogos de GnRH. (ADAGIO, 2011)

Por lo tanto, el estudio del presente proyecto de investigación pretendió 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, posibilitando su aplicación en perros domésticos.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1 Beneficiarios directos:

- Laboratorio que realiza la vacuna: IMPROVAC
- Dueños de los caninos
- Municipio de Quito
- Población humana

4.2 Beneficiarios indirectos:

- **Coordinador del Proyecto:** Diana Fernanda Polo Calva (Estudiante)
- **Tutor del Proyecto:** Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso (Docente)

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A más de la intervención del Municipio, instituciones nacionales como la Universidad Central del Ecuador, la Universidad de las Américas y la Universidad San Francisco de Quito; e internacionales, como la Universidad de Florida, a través de sus facultades o escuelas de Medicina Veterinaria, también han realizado varias campañas de esterilización con el objetivo de vincularse y concientizar a la comunidad (CADENA, 2013).

Una de las variables que ha influenciado en la disminución de la población de perros callejeros, ha sido la creación de Protección Animal Ecuador (PAE), que empieza a funcionar como fundación a partir del año 2005. Esta fundación tiene varios programas que ayudan al

control poblacional, recoge animales callejeros para ponerlos en adopción, realiza campañas de esterilización gratuitas aproximadamente cada mes, para contribuir con el cuidado responsable de las mascotas, y continuamente elabora charlas educativas como vinculación a la comunidad (PAE, 2011).

En relación a la sobrepoblación canina uno de los mecanismos de su control es el factor natalidad, y se indivisa uno de los protocolos que aseguran su control como lo es la esterilización. Así, respecto a los problemas que los perros callejeros enfrentan y sobre estos se generan dificultades que se extienden al ámbito de la salubridad e inseguridad de la población humana. (JÁCOME, 2013).

Para entender la problemática existente, asociada a la relación humanos-perros, es fundamental saber reconocer y diferenciar entre cuatro tipos de perros, división teórica hecha para dar soluciones reales al tema (BRUSONI, 2007).

Perro supervisado:	Totalmente dependiente y totalmente restringido o supervisado.
Perro callejero:	Totalmente dependiente; semi-restringido.
Perro del vecindario:	Semi-dependiente; semi-restringido o sin restricción.
Perro vagabundo:	Independiente, sin restricción. Aunque puede necesitar de los desperdicios humanos para su sustento, nadie es responsable de él.

Fuente: (WHO & WSPA, 1990)

El hecho que el 80 % de los animales que deambulan por la vía pública tengan dueño demuestra que existe una práctica generalizada de tenencia irresponsable y que aquellos auténticamente desamparados son descendientes, en su inmensa mayoría, en 1ª o 2ª generación, de perras que en el momento de la parición, también tenían propietario. En consecuencia podemos afirmar que la causa principal de la existencia del perro callejero es la irresponsabilidad humana. La castración de los machos caninos reduce el impulso reproductivo sexual y puede tener un efecto tranquilizante que los hace menos inclinados a vagar y a ser más hogareños. También la castración de los machos caninos puede mejorar su salud reduciendo el riesgo de enfermedad de la próstata, cáncer testicular e infecciones (JÁCOME, 2013).

Un aspecto que siempre resulta confuso es la diferencia entre esterilización y castración. La castración consiste en la extirpación quirúrgica de las “gónadas” o glándulas sexuales, testículos en los machos y ovarios en las hembras; lo cual conllevará además de la esterilidad del individuo, la ausencia de actividad sexual (desaparición del celo, el macho no montará, etc.) y desaparición de conductas sexuales secundarias (no se produce el marcaje territorial, disminución de la agresividad, etc.). La esterilización sólo pretenderá evitar la fertilidad del animal de forma quirúrgica, pudiendo en unos casos conservar los testículos u ovarios y mantener una conducta sexual normal. “Toda castración conlleva la esterilización del animal, pero para esterilizar no se tiene que necesariamente producir la castración” (RUBIO MANUEL, 2012).

¿Cuál es la incidencia social y sanitaria en relación a la sobrepoblación canina y su correlación respecto a la aplicación de técnicas quirúrgicas y farmacológicas?

6. OBJETIVOS:

6.1 General

- Evaluar los efectos de la aplicación de análogos o antagonistas de GnRH como moduladores de hormonas sexuales para determinar la Inmunocastración en Canis Lupus Familiaris.

6.2 Específicos

- Aplicar vacuna anti GnRH en Canis Lupus Familiaris para determinar su efecto modulador.
- Determinar la eficiencia de la vacuna anti GnRH a través del análisis de la morfometría testicular y su incidencia en la histología del testículo.
- Evaluar la concentración de hormonas sexuales masculinas antes y posterior al tratamiento para determinar su dinámica.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Objetivo 1	Actividad	Resultado /actividad	Descripción /actividad
Aplicar vacuna anti GnRH en Canis lupus familiaris para determinar su efecto modulador.	Aplicación de la vacuna anti-GnRH en Canis lupus familiaris.	Determinación del efecto modulador de la vacuna.	Inoculación de la vacuna vía subcutánea, una sola dosis.
Objetivo 2	Actividad	Resultado /actividad	Descripción /actividad
Determinar la eficiencia de la vacuna anti GnRH a través del análisis de la morfometría testicular y su incidencia en la histología del testículo.	Análisis de la morfometría, histología testicular.	Determinación de la eficiencia de la vacuna y su incidencia en la estructura testicular.	Mediciones del diámetro, longitud testicular, y grosor del escroto Castración quirúrgica y fijación en placas histológicas.
Objetivo 3	Actividad	Resultado /actividad	Descripción /actividad
Evaluar la concentración de hormonas sexuales masculinas antes y posterior al tratamiento para determinar su dinámica.	Evaluación de la concentración de hormonas sexuales masculinas.	Determinación de la dinámica hormonal a través de sus niveles de concentración.	Obtención de muestras sanguíneas antes de la inoculación de la vacuna y posterior a su aplicación, previo análisis de laboratorio.

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1 Clasificación taxonómica del perro

Se dice que el perro es el primer animal en ser domesticado el cual ha convivido con el hombre como compañero de trabajo o animal de compañía. En cuanto a su tamaño o talla, su forma o pelaje es muy diverso o variado según su raza. Los perros acostumbran proteger y complacer a su amo por lo que son considerados el mejor amigo del hombre (MARTINEZ, 2014).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del perro

REINO	ANIMAL
DIVISIÓN	CORDADO (vertebrado)
CLASE	MAMÍFERO
ORDEN	CARNÍVORO
FAMILIA	CANIDAE
GÉNERO	CANIS
ESPECIE	CANIS FAMILIARIS
SUBESPECIE	CANIS LUPUS FAMIARIS

Fuente: (MARTIN, 2016)

8.2 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 & LIEBICH, 2011).

8.2.1 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 esperma. 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).

8.2.2 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:

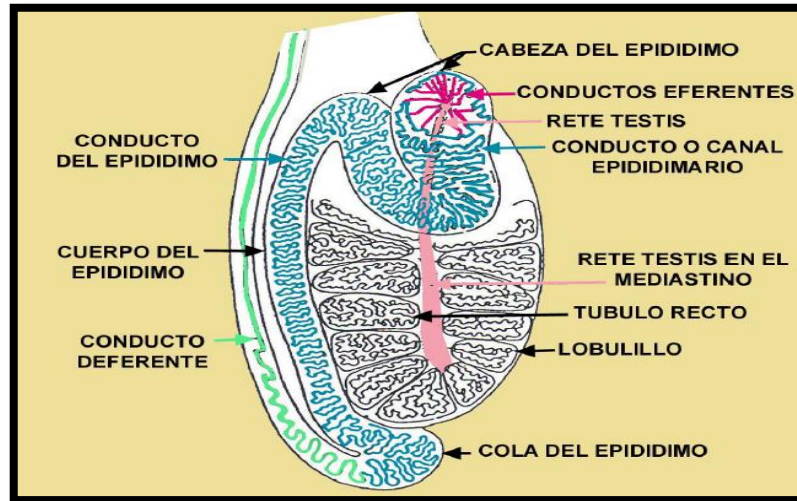
cápsula de tejido conectivo (túnica albugínea), septos tejido conectivo (septos del testículo) y cuerpo de tejido conectivo (mediastino del testículo) (CARAVACA, 2003).

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, SACK, & WENSING, 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 & O'REILLY, 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 & LIEBICH, 2011).

Gráfico 1. Esquema Estructura del Testículo



Fuente: (GUEZZI, 2004)

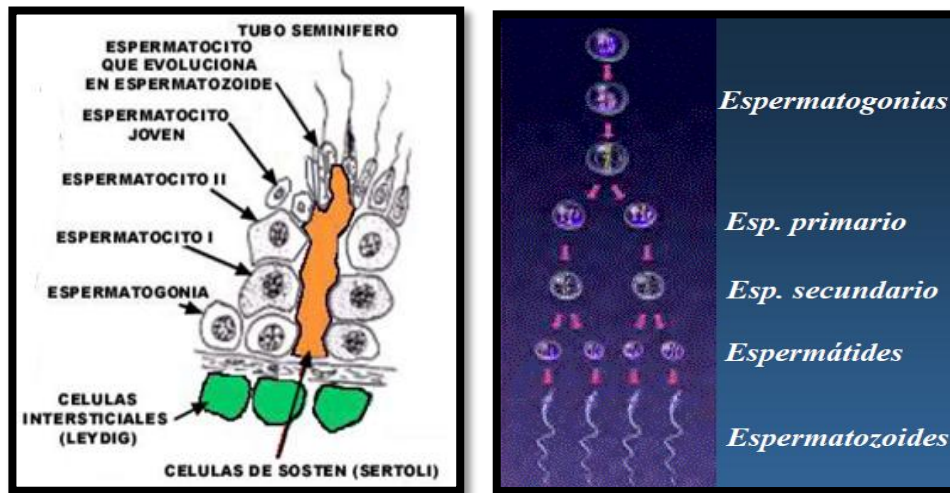
8.2.3 Histología testicular

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 tunicas: 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 túbulo 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 espermatoцитos primarios (diploides). Estos sufren la primera división meiótica para generar espermatoцитos secundarios que, al completar la segunda

división meiótica, dan origen a espermátides haploides. Después de deshacerse de una gran parte de su citoplasma, reorganiza su población de orgánulos y adquiere ciertos orgánulos especializados, las espermátides se convierten en espermatozoides (GARTNER & HIATT, 2008).

Gráfico 2. Espermiogénesis



Fuente: (GUEZZI, 2004)

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 autoinmunitarios. 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. La LH activa las células intersticiales de Leydig que libera testosterona, la FSH induce a las células de Sertoli para la producción de adenilato ciclasa, que a través de un intermediario de cAMP, estimula la síntesis de proteína fiadora de andrógenos (ABP). La Testosterona se une a la ABP y el complejo se libera hacia la luz del túbulo seminífero, donde la concentración elevada de testosterona potencia la espermatogénesis (WELSCH & DELLER, 2010).

8.3 Revisión de la fisiología testicular

8.3.1 Espermatogénesis.

La espermatogénesis comienza inducida por la FSH; (WHITTEN, 1984), afirman que es poco necesaria la presencia de testosterona para complementar el proceso. Las gonadotropinas de la hipófisis regulan directamente la mitosis y meiosis de las células germinativas, e indirectamente de la maduración de las espermátides (WHITTEN, 1984).

La espermatogénesis como tal, es un proceso largo y dirigido en el que las células madres diploides de la base de los túbulos seminíferos (espermatogonias) se dividen por mitosis pasando a espermatocitos primarios que se dirigen al centro del tubo las cuales sufren progresivas divisiones meióticas hasta diferenciarse en espermátidas haploides desarrollando flagelo, luego tras su maduración y paso a través del epidídimo (WHITTEN, 1984) se liberan como espermatozoides. La cantidad de luz diurna también tiene un fuerte efecto en el funcionamiento testicular y en la temporada reproductiva debido a los efectos que tienen en la hipófisis (CUNNINGHAM, 2003).

La gonadotropina y la secreción de hormonas esteroideas en el perro son controlados principalmente por mecanismos de retroalimentación que incluyen el hipotálamo, la glándula pituitaria anterior, y las gónadas. La gonadectomía es una técnica quirúrgica que se realiza con frecuencia en la práctica veterinaria como un medio fiable de control de la población, altera el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HPG) (DONOVAN, 2013).

8.3.2 Testosterona

La testosterona, la dihidrotestosterona y los estrógenos, regulan la síntesis y liberación de LH a través de una retroalimentación negativa ejercida a nivel del hipotálamo o del lóbulo anterior de la hipófisis. Debido a que tanto la FSH como la LH son necesarias para la existencia en los testículos de una alta concentración de sustancias responsables de una espermatogénesis normal. (CUNNINGHAM, 2003).

Por tanto, puede verse que los andrógenos no sólo controlan los procesos reproductivos sino el comportamiento asociado: la monta, la agresividad y el marcaje territorial. Partes del córtex

cerebral de la región hipotalámica también están implicados en la determinación del comportamiento sexual (PTASZYNSKA, 2007).

Cuadro 2. Testosterona

Clasificación	Testosterona (ng/ml)
Perro normal	0,5 - 10,0 ng/ml
Castrado	<0,2 ng/ml
Criptórquido unilateral	1,0 - 5,0 ng/ml
Criptórquido bilateral	0,1 - 2,0 ng/ml
Tumor de células de Sertoli	0,1 - 2,0 ng/ml con alza de estrógenos.

Fuente: (COUTO, 2000)

8.3.3 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 parsintermedia; y uno posterior denominado neurohipófisis (CUNNINGHAM J. , 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, CATALÍNA, MALLO, & FEDERICO, 2006).

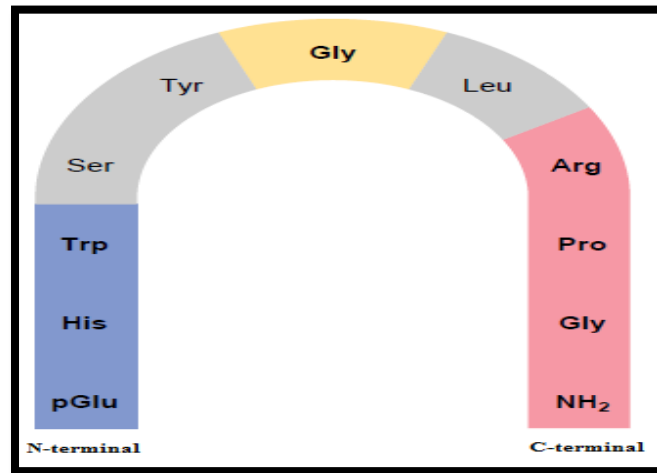
La LH actúa sobre las células testiculares de Leydig para estimular la síntesis de andrógenos, principalmente testosterona a partir de colesterol. Testosterona es necesaria para la gametogénesis en los túbulos seminíferos y para la conservación de libido y características sexuales secundaria. La FSH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

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

8.3.4 Hormona liberadora de gonadotropina (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-NH₂ o p-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Trp-Tyr-Pro-Gly-NH₂) 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 E. , 2009).

Gráfico 3. Esquema de la estructura de la hormona GnRH



Fuente: (MARÍA, 2014)

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 α -adrenérgico, de carácter estimulador, y el opioide, de carácter inhibidor (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-NH₂ (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 actué directamente sobre las gónadas, pero a concentraciones elevadas o mediante agonistas potentes inhibe la acción de la LH sobre la testosterona (FLORES, 2008).

8.4 Mecanismo de acción de los análogos de la gnrh

8.4.1 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 antagoniza la acción del agonista. (MADDISON, PAGE, & CHURCH, 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, 2006).

Los agonistas de la GnRH de uso habitual son el acetato de leuprorelina, el acetato de nafarelina, acetato de busarelina y triptorelina (LÓPEZ M. , 2008).

8.4.2 Antagonistas de la gnrh

Un antagonista interactúa con un receptor para inhibir la 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 pueden 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, PAGE, & CHURCH, 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 gonadotropinas. 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 gonadotropinas. La recuperación de la función pituitaria ocurre más rápidamente después del uso de antagonistas que de agonistas del GnRH (LIMA, 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 M. , 2008).

El principal efecto de las gonadotropinas 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).

8.4.3 Acetato de buserelina:

La buserelina es un fármaco péptido agonista de GnRH, que comprende una secuencia de nueve aminoácidos (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (tBu) Leu-Arg-Pro-NH-Et. Sobre la base de la identidad de estos productos de degradación, se plantearon diferentes hipótesis de degradación. En primer lugar, β -eliminación directa del resto hidroxilo en el residuo de serina, seguido por la fragmentación en una amida (pGlu-His-Trp-NH₂) y pyruvoyl (pyruvoyl-Tyr-D-Ser (tBu) Leu-Arg-Pro- NH-Et) fragmentos de péptidos. En segundo lugar, la hidrólisis troncal directa produciría pGlu-His-Trp y Tyr-D-Ser (tBu) fragmentos de péptidos Leu-Arg-Pro-NH-Et (D'HONDT, y otros, 2014).

La buserelina es una hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH). Es un análogo sintético de LHRH (también conocida como hormona liberadora de gonadotropina [GnRH]). Agonistas LHRH (LHRHa) inicialmente estimulan la liberación de luteinizante hormona (LH, gonadotropina), resultando en una elevación transitoria en andrógenos en suero en hombres y estradiol en suero en mujeres. Sin embargo, la administración crónica puede causar baja regulación de los receptores de LHRH, inhibiendo así la secreción de LH y en última instancia las hormonas sexuales (andrógenos, estradiol). Por la disminución de la producción testicular de andrógenos en los hombres, LHRHa puede inhibir el crecimiento del cáncer de próstata dependiente de andrógenos. Del mismo modo, reducir LHRHa la secreción ovárica de estradiol y progesterona en las mujeres, conduce a la inhibición de los cánceres dependientes de estrógenos (DRUG, 2007).

8.4.4 Leuprorelina:

Análogo sintético de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH o LH-RH). Inhibe de forma reversible la secreción de gonadotropinas, y con ella la esteroidogénesis ovárica y testicular (SALAZAR, PERATA, & PASTOR, 2009).

8.4.5 Cetrorelix:

El cetrorelix es el resultado de una modificación a la secuencia nativa de GnRH mediante la inclusión de cinco aminoácidos en las posiciones 1, 2, 3, 6 y 10. Los grupos terminales amino y acetilo le dan estabilidad y son necesarios para completar la actividad antagonista. Este

antagonista de GnRH, produce a inhibición inmediata de gonadotropinas, al unirse competitivamente a los recetores de GnRH y bloquea su acción estimuladora endógena sobre as células hipofisarias. La GnRH es desplazada por el bloqueo de los receptores de alta y baja afinidad. Tiene afinidad constante cinco veces mayor para el receptor de baja afinidad y 1.4 veces para el de alta afinidad. El efecto neto es inhibir de manera rápida y eficaz la secreción de LH por las células gonadotróficas de la hipófisis y, como consecuencia, reducir la secreción de esteroides gonadales (SUMANO & OCAMPO, 2006).

8.5 Métodos de control de población

El pilar principal del control de población para perros y gatos es la esterilización quirúrgica a través de ovario histerectomía y orquiectomía. Sin embargo, existen muchas razones por las cuales tal vez no sean eficaces como el único método para el control de la población. Se requiere de anestesia, equipo médico, instalaciones quirúrgicas adecuadas, tiempo de recuperación apropiado, así como la capacitación avanzada de un veterinario. Asimismo, conlleva el riesgo inherente de cualquier procedimiento quirúrgico. Muchas personas se encuentran renuentes a someter a sus mascotas a lo que ellos perciben como un procedimiento doloroso e invasivo. Para muchos propietarios, el costo de la cirugía resulta prohibitivo, sobre todo en países en desarrollo. Además, muchos perros y gatos carecen de dueño; así, los refugios y otras organizaciones para animales se hacen cargo de financiar las cirugías. Esterilizar estos animales implica determinados métodos de captura que pueden requerir personal. Uno de tales métodos son los programas de capturar-esterilizar-regresar para perros callejeros (CATHEY, 2010).

8.5.1 Técnicas quirúrgicas

Hay dos tipos de cirugía: la vasectomía y la orquiectomía. La vasectomía consiste en la ligadura y generalmente la sección de un fragmento del conducto deferente, que recordemos era por donde se transportan los espermatozoides. No afecta al comportamiento del perro, ni evita los problemas testiculares ni protáticos en la madurez. Únicamente evita que el macho sea fértil si monta a una perra. La orquiectomía consiste en la excisión de los testículos, previa ligadura del paquete vascular y del conducto deferente, a través de una incisión realizada en el

escroto o en la zona pre-escrotal. Es una cirugía muy sencilla y rápida, y el periodo postoperatorio oscila entre 7 y 10 días (VALERA, 2017).

8.5.2 Métodos no quirúrgicos de anticoncepción en perros

La población perros sin dueño y de vida callejera en el mundo se desconoce, pero nosotros sabemos que existe una sobrepoblación. Ellos representan un riesgo a la salud para las personas y mascotas. Los perros de vida callejera, también pueden tener un impacto negativo en las especies silvestres y en el ambiente. Además, la asistencia para los animales de la calle resulta debatible y es probable que varíe según la localización, el clima y las actitudes de las personas. Algunas evidencias indican que los perros callejeros tienen menores esperanzas de vida que los perros con dueño (CATHEY, 2010).

8.5.3 Métodos anticonceptivos químicos en machos.

Es una alternativa a los métodos quirúrgicos, evitando así las desventajas de la cirugía como costo y cuidado posoperatorio. Estos métodos involucran la inyección bilateral de sustancias irritantes dentro de las colas de los epidídimos, cuya reacción cicatricial, que se da en el tejido epididimario en el sitio de inyección, bloquea el pasaje de espermatozoides desde el epidídimo al conducto deferente. Se pueden presentar dolor e irritación, llegando a desarrollar áreas necróticas y úlceras en el escroto cuando la solución cae dentro de la cavidad escrotal comprometiendo el bienestar animal. La Castración Química Intraepididimaria consiste en la aplicación en la cola del epidídimo de diversas sustancias como el gluconato de clorhexidina, el etanol, la formalina y el cadmio, aunque muchos de estos requieren de dosis altas y tienen efectos colaterales severos como en el caso del cadmio. La Orquiectomía Química consiste en aplicar una inyección intratesticular de determinadas soluciones, como gluconato de zinc, que produce necrosis del tejido testicular causando la no producción de células germinales, así como alteración de la producción hormonal sexual (MUÑOZ, 2011).

8.6 Inmunocastración.

El principal patrón de liberación de gonadotropinas es pulsátil y está determinado por la secreción de GnRH desde el hipotálamo. La importancia de este sistema de reparto lo demuestra el hecho de que si la GnRH se administrará de forma continua farmacológicamente el sistema puede inactivarse. Una ocupación continua de los receptores de GnRH en las células gonadotropinas por la GnRH administrada, interrumpiría la señal intracelular para la síntesis y liberación de gonadotropinas en el organismo. Se puede ver alterada la liberación pulsátil del GnRH endógeno al aplicar de manera continua una GnRH sintética, si resaltamos este pensamiento y lo relacionamos con los avances de las vacunas recombinantes, se obtienen vacunas de nueva generación que afecten el feedback reproductivo, creando de esta manera inmunidad contra hormonas de la reproducción como es el GnRH en los mamíferos, obteniendo como resultado una supresión de la función normal de la capacidad reproductiva de forma reversible, mientras la curva de anticuerpo de GnRH se mantiene en el organismo por un determinado tiempo (CUNNINGHAM J. , 2003).

Lo avances en el área de la fisio- inmunología han permitido crear vacunas con la capacidad de generar anticuerpos contra hormonas endógenas, en este caso en particular el GnRH. Los resultados en avances de diferentes especies muestran el éxito y el efecto directo de las vacunas. (MUÑOZ, 2011).

8.6.1 Inmunocastración en porcinos.

Los avances en esta área surgieron con la necesidad de controlar la población de cerdos ferales en zonas naturales en el Sur de Estados Unidos. Además se ha comprobado la aplicabilidad de estas vacunas no solo en el control poblacional, sino su aplicabilidad desde el punto de vista zootécnico; Pfize retoma esta iniciativa con su producto Improvac® y orienta este tipo de biotecnología para evitar un mal manejo en cuanto a estrés en los porcinos con la castración quirúrgica, para mejorar el rendimiento en canal y eliminar el olor sexual producido en los cerdos machos (EMA, s. f., 2013).

8.6.2 Inmunocastración en bovinos

En la especie bovina Pfizer fue pionero generando una vacuna recombinante con especificidad a esta especie denominada Bopriva®, en un estudio realizado en 1,600 toros de engorde, por el área de Salud Animal de Pfizer en conjunto a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), se demostró el efecto de la vacuna de análogo de GnRH, establecida en diferentes tratamientos, demostrando claramente el efecto de la vacuna de GnRH en supresión de niveles de testosterona hasta el día 147 del estudio y disminuyó el peso testicular de los toros expuestos a la vacuna. Características de la carne (terneza) mejoraron en los toros vacunados con la vacuna de GnRH (CHANTLER, 2012).

8.6.3 Inmunocastración en camélidos.

Estudios en la Universidad de Oregon en los Estados Unidos, utilizando Canin Gonadotropin Releasing Factor Immunotherapeutic® en alpacas y llamas, se logró demostrar el efecto significativo de la vacuna en una población de 18 unidades experimentales. Los efectos al igual que en otras especies fueron la disminución del volumen testicular, comportamientos pasivos, disminución de los niveles de testosterona y el aumento de la IgG en relación a los anticuerpo contra el GnRH (DONOVAN C. , 2013).

8.6.4 Inmunocastración en animales de fauna silvestre.

Estados Unidos a través del Centro Nacional de Investigaciones en Vida Silvestre fue una de las instituciones pioneras en la investigación de este tipo de biotecnologías para crear soluciones alternativas para el control de algunas especies de fauna silvestre que se encuentran fuera de control en su reproducción natural, de modo que dejan de equilibrar el ecosistema y lo impactan de maneras inquietantes. GonaCon® surgió como respuesta a esta problemática; abarcando una diferente gama de especies en donde como representación y orientación principal tiene al venado cola blanca, que con solo una aplicación de esta vacuna contraceptiva provee inmunidad contra el GnRH hasta por 5 años. La vacuna es implementada para el control de ardillas, perritos de las padreras, caballos entre otros (NWRC, 2013).

8.6.5 Inmunocastración en felinos.

Las investigaciones en esta biotecnología con felinos han tenido resultados importantes en la supresión del comportamiento sexuales de los gatos sometidos en estudios. Un reciente estudio publicado por la revista Argos (2012) menciona que el uso de agonistas de la GnRH puede suponer la solución al problema de control reproductivo en los gatos. Los niveles de testosterona en el gato son inferiores, permaneciendo basales durante al menos 390 días. El volumen testicular disminuye entre 3 y 4 veces y el comportamiento sexual de macho. Cabe destacar que las espículas penianas, cuya presencia está ligada a la de la testosterona, no desaparecen por completo hasta los 210 días. Este mismo resultado se logra a través de la aplicación de vacunas contraceptivas, estudios realizados con el uso de vacunas recombinantes a base del virus del herpesvirus felino tipo 1 (FHV-1), utilizado como vector y causar un efecto inmunógeno apropiado contra el GnRH, lo cual provea efectos deseados (WAITE, 2006).

8.6.6 Inmunocastración en caninos.

De igual forma en la especie canina se han realizado diferentes estudios, orientado a dar nuevas alternativas en el control reproductivo de la especie; un estudios realizado en 8 perros Beagle se empleó una vacuna contraceptiva a base de péptido sintético de GnRHm combinado con toxoide tetánico (TT), demostró el aumento del número de espermatozoides patológicos a la determinación por espermograma, además los perros inmunizados con la vacuna al ser extraídos los testículos y en cortes histológicos se evidencio la disminución del diámetro de los túbulos seminíferos en donde se producen los espermatozoides a diferencia de perros no inmunizados (BASULTO R. , 2003).

En otro estudio realizado en la Universidad de Chile manifiestan que vacunas contraceptivas en forma de sebo y parenteral, influyen directamente en los niveles de testosterona plasmática por debajo de 0.1ng/ml de absorbancia hasta el día 75 post-inoculación (ITURRIAGA, 2012).

Además, la liberación cíclica por episodios (alzas periódicas) en animales normales puede causar considerables variaciones en la concentración basal de testosterona. En lugar de medir niveles basales de testosterona para detectar animales criptorquideos, se ha desarrollado una prueba denominada la prueba de respuesta a la hormona liberadora de gonadotropinas

(GnRH) o a la gonadotropina coriónica humana (hCG). Estas pruebas son buenos indicadores en la determinación de testosterona en animales castrados, potros normales y criptorquideos. La prueba de respuesta a GnRH es poco práctica en el equino debido al mayor costo (por la dosis utilizada). Esta prueba es usada más comúnmente en perros (MATAMOROS, 2002).

8.7 Innosure (péptido sintético análogo del gnRH conjugado con toxoide de difteria) solución inyectable para cerdos

IMPROVAC® es una vacuna que permite la castración de los cerdos machos a través de la creación de anticuerpos contra la GnRH. No obstante, además de conseguir los efectos deseados y acorde con la castración quirúrgica, sus ventajas no son únicamente el ahorrarse el tiempo de castrar lechones y las pérdidas por este manejo, lo sorprendente fueron la mejora en resultados productivos que nos presentaron (WORDPRES, 2012).

Improvac® es para uso en cerdos machos enteros como una alternativa de la castración quirúrgica que contribuye al bienestar del animal. Improvac® controla la acumulación de sustancias que confieren el olor sexual (incluyendo la androstenona y el escatol) después de la segunda vacunación a través de su efecto inhibitorio sobre el GnRF (Factor de liberación de gonadotropinas) y sobre la producción de testosterona. Improvac® se prepara a partir de un análogo de GnRF ligado a una proteína acarreadora. Se le agrega un adyuvante acuoso sintético para incrementar el nivel y la duración de la inmunidad. Cada ml de vacuna proporciona 200 µg de conjugado proteico de GnRF (ALDAZ, 2012).

8.7.1 Acción del innosure (improvac®)

En el cerdo, el desarrollo y la función de los testículos están controlados por el factor liberador de gonadotropinas (GnRF), que se segrega en el hipotálamo. El GnRF se une a receptores específicos de la hipófisis y provoca la liberación de hormona luteinizante (LH) y de hormona foliculoestimulante (FSH). La LH y la FSH actúan sobre los testículos para regular la secreción de esteroides testiculares, entre ellos testosterona y androstenona. INNOSURE es una vacuna que estimula el sistema inmunitario del cerdo para producir anticuerpos específicos frente al GnRF. Esto inhibe temporalmente la función testicular y por

tanto detiene la producción y acumulación de los componentes responsables del olor sexual. (ZOETIS, 2012)

Al estimular la producción de anticuerpos específicos frente al GnRF, INNOSURE interrumpe la cadena de acontecimientos que conduce a la liberación en los testículos de testosterona y otros compuestos, como la androstenona, uno de las principales causantes del olor sexual. El otro compuesto principal que causa el olor sexual es el escatol, cuya concentración disminuye porque, gracias a la menor concentración de esteroides testiculares, el hígado lo puede metabolizar más eficazmente. El único efecto directo de INNOSURE sobre el cerdo es estimular la producción de anticuerpos específicos que provocan la eliminación del olor sexual. INNOSURE no añade hormonas al animal ni le estimula a que las produzca. Al contrario, se trata simplemente de una forma inmunológica de suprimir temporalmente la función testicular (MATUTE, 2013).

8.7.2 Contenido del innosure

El antígeno que contiene INNOSURE es un análogo sintético e incompleto del GnRF natural que se conjuga (mediante un enlace covalente) con una proteína acarreadora (usada frecuentemente en las vacunas pediátricas humanas). El análogo de GnRF no tiene actividad inmunológica por sí mismo; por eso, para ser inmunógeno se tiene que conjugar con una proteína “extraña” de mayor tamaño (ZOETIS, 2012).

8.7.3 Almacenamiento:

Almacenar entre 2° y 8°C. La exposición prolongada a temperaturas más altas puede afectar la potencia del producto. No congelar (ZOETIS, 2012).

8.7.4 Administración:

Administrar asépticamente 2 ml inyectados subcutáneamente (justo bajo la piel) en la base del cuello, inmediatamente atrás de la oreja (MATUTE, 2013).

Deberán administrarse dos dosis de la vacuna a los cerdos machos enteros en un intervalo de al menos 4 semanas. La segunda dosis deberá aplicarse 4 a 10 semanas antes del sacrificio. Las recomendaciones anteriores acerca del método y el programa de vacunación, el sitio de

inyección deberán de seguirse cuidadosamente para asegurar el efecto óptimo y minimizar el daño a la canal. La inmunidad efectiva (el desarrollo de anticuerpos anti-GnRF) se desarrolla aproximadamente entre los 10 y los 14 días después de la administración de la segunda dosis de la vacuna (MATUTE, 2013).

8.8 Efectos de la vacunación en cerdos

Reducción testicular. Disminuye la producción de testosterona. Disminuye el olor a verraco: reducción de los niveles de androstenona por la disminución de la testosterona y ésta disminución, a su vez, aumenta el metabolismo hepático y eliminación del escatol. Recordemos que la androstenona y el escatol son los responsables de los olores en las carnes de machos enteros (WORDPRES, 2012).

Disminuyen los comportamientos de montas y agresividad. El olor sexual de los animales tratados se reduce a niveles imperceptibles (tal y como sucede en los castrados quirúrgicamente). Podemos ver claramente que la deposición de grasa es superior a la del macho entero pero muy inferior a la del castrado quirúrgico lo que hace extremadamente interesante la vacunación versus a la castración física (WORDPRES, 2012).

8.9 Marco referencial

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

Autores:

- SANDRA DEL CARMEN RAMOS SAILEMA
- CARMEN ESTEFANIA NOLASCO CAIZA

LATACUNGA - ECUADOR - 2016

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

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 caninos.
- Respecto a la constitución de la vacuna, se estableció la composición química del biológico anti-GnRH, a base de un análogo sintético de la hormona liberadora de Gonadotropinas (PMSG), que se conjugó a la bacterina clostridium toxoide, con un adyuvante (hidróxido de aluminio) para energizar los efectos en las unidades experimentales.
- La vacuna generada 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 vacuna aplicadas; determinando que los animales del T3 y T4 fueron los que mejor respondieron al tratamiento.

“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DEL PÉPTIDO SINTÉTICO ANÁLOGO DEL GNRH CON TOXOIDE DIFTÉRICO, COMO MÉTODO CONTRACEPTIVO EN CANIS LUPUS FAMILIARIS MACHOS EN EL CANTÓN PRIMAVERA, MUNICIPIO DE SANTA ANA, DEPARTAMENTO DE SANTA ANA, EL SALVADOR.”

Autores:

- BR. AYALA DÍAZ WILLIAN JONATAN
- BR. CHAHÌN COLOCHO CARLOS EMILIO
- BR. JOVEL CASTANEDA EVER EZEQUIEL

AGOSTO DE 2014

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

CONCLUSIONES:

- A partir de la semana 10 post-vacunación, se evidencio una disminución testicular en las dimensiones de largo y ancho, en los tratamientos con refuerzo.
- La relación del efecto inmunógeno provocado por la vacuna, produjo anticuerpos anti GnRH, bloqueando la función de la GnRH endógena.
- Al aplicar la dosis de dos mililitros con refuerzo a las cuatro semanas, causo efectos significativos en la reducción de los niveles séricos de testosterona, influyendo en la función reproductiva. Observando los menores resultados, a partir de las semanas 15 y 16 de la fase de campo del experimento.
- En nuestro país esta vacuna puede ser una alternativa viable, como método de control de poblaciones caninas.
- Al comparar los niveles de testosterona con los tamaños testiculares, existe una relación altamente significativa tras la vacunación, determinando que a menores niveles de testosterona, existirá un menor tamaño testicular en los animales inmunizados, debido a la dependencia de la testosterona en la función y estructura testicular.
- En los animales inmunizados, se observó una reducción en los parámetros etológicos de agresividad, libido y fugas de casa, influenciadas por la reducción de los niveles séricos de testosterona, al verse afectada la GnRH endógena por una respuesta inmunológica, siendo la testosterona la responsable del comportamiento sexual.

9. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS:

9.1 Hipótesis alternativa

- Mediante la aplicación de la vacuna Anti GnRh en *Canis lupus familiaris* se genera efecto de inmunosupresión de la función reproductiva.

9.2 Hipótesis nula

- Mediante la aplicación de la vacuna Anti GnRh en *Canis lupus familiaris* no se genera efecto de inmunosupresión de la función reproductiva.

10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:

Se empleara un diseño t de estudent para detectar la existencia de diferencias significativas entre las medias de una determinada variable cuantitativa en dos grupos de datos. Es una prueba estadística que nos permitirá evaluar si dos grupos difieren estadísticamente entre sí, de manera significativa respecto a sus medias. Es una prueba apropiada para comparar los promedios de dos grupos, y especialmente apropiado como análisis para el diseño experimental de solo postest de dos grupos al azar. Esta opción debe utilizarse cuando la comparación se realice entre las medias de dos poblaciones independientes (los individuos de una de las poblaciones son distintos a los individuos de la otra) La prueba calcula estadísticos descriptivos para cada grupo, la igualdad de varianzas, así como los valores de t para varianzas iguales y desiguales y el intervalo de confianza del 95% para la diferencia de medias.

Cuadro 3. Esquema de animales experimentales (canis lupus familiaris)

Testigos	4
Experimentales	4
Total	8

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Cuadro 4. Variables e Indicadores

Variable Independiente	Variable Dependiente	Indicadores
Vacuna anti GnRH	Morfología testicular: <ul style="list-style-type: none"> - Diámetro del testículo - Longitud del testículo Hormonas: <ul style="list-style-type: none"> - Lh - Fsh - Testosterona 	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

10.1 Descripción de la metodología

10.1.1 Toma de muestra de sangre:

a) Materiales:

- Jeringas de 5 ml de capacidad
- Algodón con alcohol
- Tubos vacutainer recolectores para serología
- Guantes de látex
- Hieleras
- Depósito para descarte
- Gradilla para tubos
- Bozales
- Papelería en General
- Marcador permanente

b) Método toma de muestra de sangre

- Se sujetó al canino utilizando un bozal, para facilitar su manejo.
- Se identificó del mejor sitio de punción venosa, (vena cefálica o vena safena).
- Se rasuró el área, dos centímetros cuadrados sobre el vaso sanguíneo, se desinfectó el área, con algodón impregnado de alcohol al 95%.
- Se realizó hemostasis por encima del sitio a puncionar.
- Se realizó una punción en el vaso sanguíneo, introduciendo la aguja con el bisel de la misma apuntando hacia arriba, en un ángulo de 45 grados aproximadamente, sobre la vena que se encontraba resaltada por la presión debido a la hemostasia.
- Se realizó ligera aspiración del émbolo, para verificar que efectivamente se introdujo la aguja al vaso sanguíneo.
- Se aspiró del émbolo de la jeringa para colectar la muestra de sangre. Una vez colectada la cantidad suficiente de muestra, se retiró la aguja haciendo presión con una torunda de algodón sobre el sitio donde se realizó la punción.
- Se depositaron cinco mililitros de sangre en los tubos vacutainer sin anticoagulante, con activador de coagulación con silicón para serología y su posterior envío al laboratorio.
- El transporte se realizó en couler a una temperatura de 4°C, protegiéndola de los rayos solares y golpes, trasladándolas lo más pronto posibles tras su extracción.

10.1.2 Determinación del tamaño testicular:**a) Materiales:**

- Calibrador o pie de rey y hoja de control.

b) Método:

- Para la medición testicular, se utilizó un calibrador o pie de rey, midiendo el ancho del testículo justo en la línea imaginaria que corta el testículo en su plano trasversal y la medición del largo del testículo se midió desde la cabeza del epidídimo hasta la base del mismo.

10.1.3 Aplicación del péptido sintético análogo del GnRH conjugado con toxoide de difteria.

a) Materiales:

- Innosure®
- Jeringas de 3 ml. de capacidad
- Algodón
- Alcohol
- Guantes de látex
- Depósito para descarte
- Bozales y correas

b) Unidades experimentales:

- Canis lupus familiaris machos enteros

11. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS:

11.1 Hormona lh

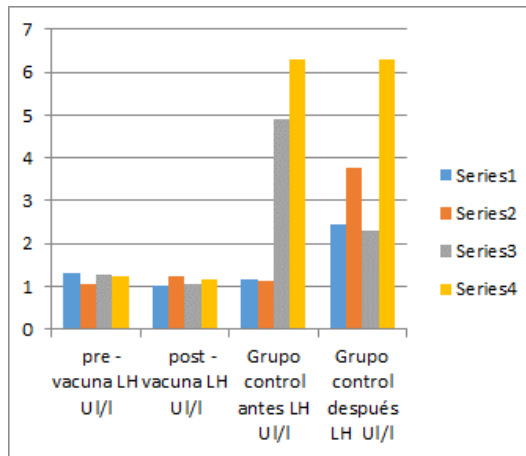
Cuadro 5. Niveles de Concentración Hormonal en Canis lupus familiaris (LH, mUI/ml)

Experimento	pre - vacuna LH UI/ml	post - vacuna LH UI/ml	Grupo control antes LH UI/ml	Grupo control después LH UI/ml
1	1,31	1,01	1,16	2,45
2	1,05	1,22	1,14	3,78
3	1,26	1,04	4,89	2,29
4	1,22	1,16	6,28	6,28

Fuente: Directa

Elaborado por: Polo Diana, 2017

Gráfico 4. Niveles de Concentración Hormonal en Canis lupus familiaris (LH, mUI/ml)



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En el Cuadro N° 5, y en el gráfico N° 4 se presenta los niveles de concentración de hormonas LH, pre y post experimentación y el grupo control, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre los promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de LH. Así, los niveles de LH antes de la aplicación de la vacuna de inmunocastración fue de 1,05 a 1,31 mUI/ml, y disminuyeron por efecto de la vacuna a rangos de 1,01 a 1,22 mUI/ml; sin embargo en el grupo control los niveles de concentración hormonal de LH son superiores presentando valores que van de 1,14 a 6,28 mUI/ml. Se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 1. Pre vacuna vs. Post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,2100	1,1075
Varianza	0,0127	0,0098
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,9119	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	0,9891	
P(T<=t) una cola	0,1978	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,3955	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 1, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,3955) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre y post tratamiento. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son inferiores al de la variable 1; por tanto, la vacuna reflejaría un efecto no tan marcado.

Tabla 2. Pre vacuna vs. Grupo control antes

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,1075	3,3675
Varianza	0,0098	6,8785
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,0189	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-1,7234	
P(T<=t) una cola	0,0916	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,1833	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 2, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,1833) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control antes. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son superiores al de la variable 1; existiendo diferencias entre las variables 1 y 2; por tanto, se considera que los valores obtenidos reflejarían el estatus fisiológico normal del canino.

Tabla 3. Pre vacuna vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,1075	3,7000
Varianza	0,0098	3,4045
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson	0,6589	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-2,9107	
P(T<=t) una cola	0,0310	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,0620	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 3, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,0620) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son superiores al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 4. Grupo control antes vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	3,3675	3,7000
Varianza	6,8785	3,4045
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,5475	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-0,2979	
P(T<=t) una cola	0,3926	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,7852	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 4, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,7852) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración del grupo control antes y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son levemente superiores al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, relacionados con la fisiología testicular, según lo reportado por (VALERA, 2017).

11.2 Hormona folículo estimulante

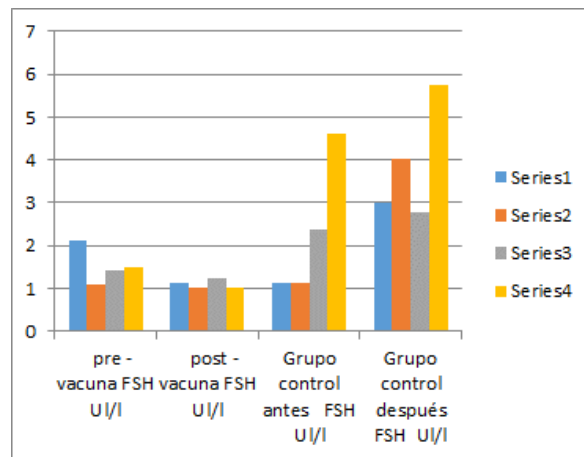
Cuadro 6. Hormona Folículo Estimulante

Experimento				
IDENTIFICACIÓN	pre -vacuna FSH UI/l	post -vacuna FSH UI/l	Grupo control antes FSH UI/l	Grupo control después FSH UI/l
1	2,13	1,13	1,12	2,99
2	1,08	1,02	1,12	4,01
3	1,41	1,25	2,36	2,78
4	1,5	1,03	4,61	5,76

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Grafico 5. Hormona Folículo Estimulante



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En el Cuadro N° 6, y en el gráfico N° 5 se presenta los niveles de concentración de hormonas FSH, pre y post experimentación y el grupo control, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre los promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de FSH. Así, los niveles de FSH antes de la aplicación de la vacuna

de inmunocastración fue de 1,08 a 2,13 mUI/ml, y disminuyeron por efecto de la vacuna a rangos de 1,02 a 1,25 mUI/ml; sin embargo en el grupo control los niveles de concentración hormonal de FSH son superiores presentando valores que van de 1,12 a 5,76 mUI/ml. Se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, respecto a la función testicular, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 5. Pre vacuna vs. Post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,5300	1,1075
Varianza	0,1926	0,0115
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson	0,2700	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	1,9990	
P(T<=t) una cola	0,0697	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,1395	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 5, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,1395) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre y post tratamiento. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la

media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son inferiores al de la variable 1; por tanto, se reflejaría el efecto de la vacuna.

Tabla 6. Pre vacuna vs. Grupo control antes

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,5300	2,3025
Varianza	0,1926	2,7082
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson		
	-0,1170	
Diferencia hipotética de las medias		
	0,0000	
Grados de libertad		
	3,0000	
Estadístico t		
	-0,8818	
P(T<=t) una cola		
	0,2214	
Valor crítico de t (una cola)		
	2,3534	
P(T<=t) dos colas		
	0,4428	
Valor crítico de t (dos colas)		
	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 6, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,4428) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control antes. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son superiores al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, respecto a la función testicular, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 7. Pre vacuna vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	1,5300	3,8850
Varianza	0,1926	1,8511
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,2886	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-3,0477	
P(T<=t) una cola	0,0278	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,0555	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 7, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,0555) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son superiores al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 8. Grupo control antes vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	2,3025	3,8850
Varianza	2,7082	1,8511
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,7702	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-3,0038	
P(T<=t) una cola	0,0287	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,0575	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 8, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,0575) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración del grupo control antes y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son superiores al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

11.3 Hormona testosterona

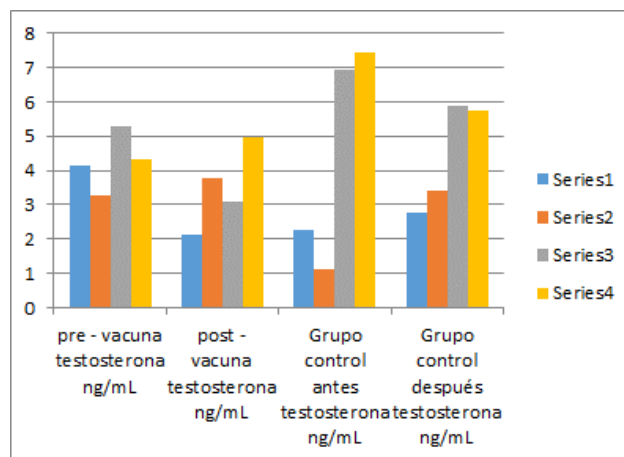
Cuadro 7. Testosterona ng/ml

IDENTIFICACIÓN	pre - vacuna testosterona ng/mL	post - vacuna testosterona ng/mL	Grupo control antes testosterona ng/mL	Grupo control después testosterona ng/mL
1	4,13	2,13	2,25	2,76
2	3,29	3,78	1,11	3,42
3	5,3	3,11	6,93	5,87
4	4,32	4,98	7,46	5,73

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Grafico 6. Testosterona ng/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En el Cuadro N°7, y en el gráfico N° 6, se presenta los niveles de concentración de hormonas Testosterona, pre, durante y post experimentación, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre los promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de testosterona. Así, los niveles de testosterona antes de la aplicación de la vacuna de inmunocastración fue de 3,29 a 5,3 ng/ml, y disminuyeron por efecto de la

vacuna a rangos de 2,13 a 4,98 ng/ml; sin embargo 60 días post ultima dosis de vacuna los niveles de concentración de testosterona son superiores presentando valores de 6,48 a 8,55 ng/ml; así, en el grupo control los niveles de concentración hormonal de testosterona son superiores, presentando valores que van de 1,11 a 7,46 ng/ml. Por tanto, se considera que estos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 9. Pre vacuna vs. Post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	4,2600	3,5000
Varianza	0,6810	1,4326
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de		
Pearson	-0,1385	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	0,9838	
P(T<=t) una cola	0,1989	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,3978	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: Polo Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 9, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,3978) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre y post tratamiento. Sin

embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son inferiores al de la variable 1; por tanto, se consideraría que existe efecto leve de la vacuna, sobre la concentración de testosterona. Posiblemente se reflejaría un efecto más marcado posterior a la segunda dosis, como lo reportado en cerdos.

Tabla 10. Pre vacuna vs. Grupo control antes

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	4,2600	4,4375
Varianza	0,6810	10,4018
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson	0,7872	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-0,1352	
P(T<=t) una cola	0,4505	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,9010	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 10, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona testosterona, ya que el p-valor (0,9010) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control antes. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 presenta niveles de concentración levemente

superiores al de la variable 1; por tanto. Por tanto, se considera que estos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, respecto a la función testicular en el canino, según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 11. Pre vacuna vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	4,2600	4,4450
Varianza	0,6810	2,5239
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de		
Pearson	0,7049	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-0,3177	
P(T<=t) una cola	0,3858	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,7716	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 11, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona testosterona, ya que el p-valor (0,7016) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración pre vacuna y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son levemente superiores al de la variable 1. Por tanto, se considera que estos

valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, respecto a la función testicular en el canino según lo reportado por (VALERA, 2017).

Tabla 12. Grupo control antes vs. Grupo control después

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable	
	1	Variable 2
Media	4,4375	4,4450
Varianza	10,4018	2,5239
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de		
Pearson	0,9454	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-0,0083	
P(T<=t) una cola	0,4969	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,9939	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Como se observa en la Tabla N° 12, esta nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,9939) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración del grupo control antes y grupo control después. Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus niveles de concentración son semejantes al de la variable 1; por tanto, se considera que esos valores se

ajustan a los rangos del estado fisiológico del aparato reproductor masculino y del mecanismo de espermiogénesis y de espermatogénesis, según lo reportado por (VALERA, 2017).

11.4 Inmunoglobulina IgG

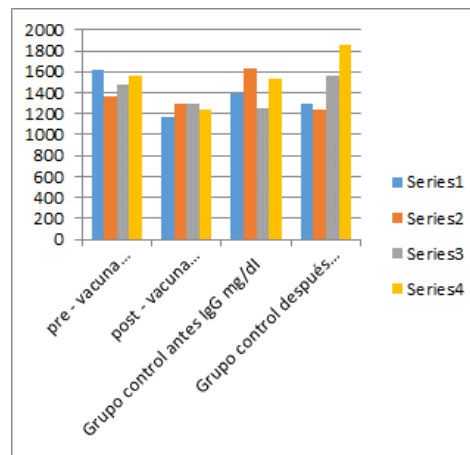
Cuadro 8. Niveles de Concentración de inmunoglobulinas IgG mg/ml

Experimento				
IDENTIFICACIÓN	pre - vacuna Inmunoglobulinas IgG mg/dl	post - vacuna Inmunoglobulinas IgG mg/dl	Grupo control antes IgG mg/dl	Grupo control después IgGmg/dl
1	1617,1	1167,6	1386,9	1293,62
2	1362,24	1293,62	1638,3	1239,7
3	1473,77	1301,21	1256,4	1567,9
4	1566,02	1239,7	1538,8	1863,2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Grafico 7. Niveles de Concentración de inmunoglobulinas IgG mg/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En el Cuadro N° 8, y en el gráfico N° 7 se presenta los niveles de concentración de inmunoglobulinas IgG, pre, y post aplicación de la vacuna de inmunocastración, en las que se observa que existen diferencias numéricas entre los promedios, presentando rangos superiores e inferiores en los niveles de concentración de IgG. Así, los niveles de IgG antes de la aplicación de la vacuna de inmunocastración fue de 1362,24 a 1617,1 mg/dl, y disminuyeron a rangos de 1167,6 a 1301,21 mg/dl, posiblemente porque la primer vacunación es insuficiente para generar un efecto estimulante del sistema inmunitario; sin embargo, en el grupo control los niveles de concentración de IgG son superiores, presentando valores que van de 1239,7 a 1863,2 mg/dl. Se considera que esos valores se ajustan a los rangos del estado fisiológico del sistema inmunitario y podría estar supeditados por influencia continúa de factores externos, que concuerda con lo reportado por (PTASZYNSKA, 2007).

Tabla 13. Pre vacuna vs. Post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	1504,7825	1250,5325
Varianza	12548,4639	3806,6281
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson	-0,8533	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	3,0308	
P(T<=t) una cola	0,0281	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,0563	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Las medias entre las variables 1 y 2 presentan diferencias.

En la tabla N° 13, nos indica que no existe diferencia estadística significativa con relación a la hormona LH, ya que el p-valor (0,0563) es mayor que el nivel de significancia (0,05) en relación a los niveles de concentración de IgG de los grupos de tratamiento y de control.

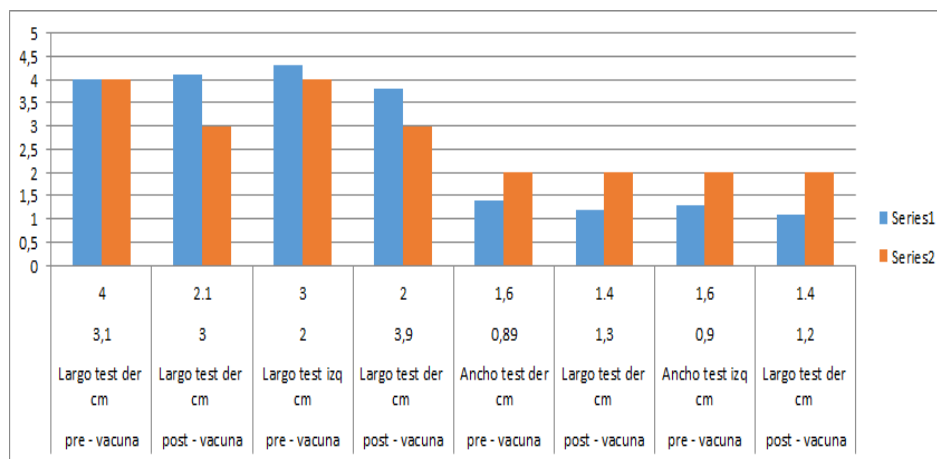
Cuadro 9. Morfometría testicular

Identificación	pre – vacuna	post - vacuna	pre – vacuna	post – vacuna	pre - vacuna	post – vacuna	pre – vacuna	post - vacuna
	Largo test der cm	Largo test der cm	Largo test izq cm	Largo test der cm	Ancho test der cm	Ancho test der cm	Ancho test izq cm	Ancho test der cm
1	3,1	3	2	3,9	0,89	1,3	0,9	1,2
2	4	2.1	3	2	1,6	1.4	1,6	1.4
3	4	4,1	4,3	3,8	1,4	1,2	1,3	1,1
4	4	3	4	3	2	2	2	2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Grafico 8. Morfometría testicular



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Tabla 14. Largo del testículo derecho - pre vacuna vs post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	3,7750	3,0500
Varianza	0,2025	0,6700
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,0407	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	1,5797	
P(T<=t) una cola	0,1061	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,2123	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa**Elaborado por:** POLO, Diana, 2017

Respecto al cuadro N° 9 y gráfico N° 8, se presenta los promedios (testículo derecho) de la morfometría testicular de los individuos inmunocastrados y su relación al efecto respecto a la utilización pre y post vacuna, se observa que las diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (longitud) no presentan diferencias considerables. Estas diferencias son independientes en cada individuo, sin embargo se evidencia que posterior a la vacuna el testículo detiene su desarrollo y luego va recuperando progresivamente su tamaño. Además, se observa que no existe diferencia estadística significativa con relación al largo del testículo, ya que el p-valor (0,2123) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Sin embargo, se observa diferencias en los valores de las medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 establece que sus medidas son inferiores a la variable 1; por tanto, existe efecto de la vacuna en relación al desarrollo testicular. Concordando con (YU. L; Y colaboradores, 2002) quienes investigaron la administración 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 obtenidos respecto a la inmunosupresión del desarrollo gonadal. Por lo

tanto, se considera que en el caso de los inmunoesterilizados 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.

Tabla 15. Largo del testículo izquierdo - pre vacuna vs post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	3,3250	3,1750
Varianza	1,0892	0,7758
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,0317	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	0,2163	
P(T<=t) una cola	0,4213	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,8426	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En la tabla N° 15, se presenta los promedios (testículo izquierdo) de la morfometría testicular de los individuos inmunocastrados y su relación al efecto respecto a la Pre vacuna vs. Post vacuna, se observa que las diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (longitud) no presentan diferencias considerables. Estas diferencias son independientes en cada individuo, sin embargo se evidencia que posterior a la vacuna el testículo detiene su desarrollo y luego va recuperando progresivamente su tamaño. Además, se observa que no existe diferencia estadística significativa con relación al largo del testículo, ya que el p-valor (0,8426) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Sin embargo, se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la

variable 2 establece que sus medidas son inferiores a la variable 1; por tanto, existe efecto de la vacuna en relación al desarrollo testicular. Concordando con (YU. L; Y colaboradores, 2002) quienes investigaron la administración 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 obtenidos respecto a la inmunosupresión del desarrollo gonadal. Por lo tanto, se considera que en el caso de los inmunoesterilizados 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.

Tabla 16. Ancho del testículo derecho - pre vacuna vs post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	1,4725	1,4750
Varianza	0,2130	0,1292
Observaciones	4,0000	4
Coeficiente de correlación de Pearson	0,7822	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	-0,0174	
P(T<=t) una cola	0,4936	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,9872	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En la tabla N° 16, se presenta los promedios (testículo derecho) de la morfometría testicular de los individuos inmunocastrados y su relación al efecto respecto a la Pre vacuna vs. Post vacuna, se observa que las diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología

testicular (ancho) no presentan diferencias. Estas diferencias son independientes en cada individuo, sin embargo se evidencia que posterior a la vacuna el testículo detiene su desarrollo y luego va recuperando progresivamente su tamaño. Además, se observa que no existe diferencia estadística significativa con relación al largo del testículo, ya que el p-valor (0,9872) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Sin embargo, no se observa diferencias en los valores de la medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 es similar a la variable 1; por tanto, no existe efecto de la vacuna en relación al desarrollo testicular.

Tabla 17. Ancho del testículo izquierdo - pre vacuna vs post vacuna

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

	Variable 1	Variable 2
Media	1,4500	1,4250
Varianza	0,2167	0,1625
Observaciones	4,0000	4
Coefficiente de correlación de Pearson	0,8616	
Diferencia hipotética de las medias	0,0000	
Grados de libertad	3,0000	
Estadístico t	0,2116	
P(T<=t) una cola	0,4230	
Valor crítico de t (una cola)	2,3534	
P(T<=t) dos colas	0,8460	
Valor crítico de t (dos colas)	3,1824	

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

En la tabla N° 17, se presenta los promedios (testículo izquierdo) de la morfometría testicular de los individuos inmunocastrados y su relación al efecto respecto a la Pre vacuna vs. Post vacuna, se observa que las diferencias numéricas de promedios en relación a la morfología testicular (ancho) no presentan diferencias. Estas diferencias son independientes en cada individuo, sin embargo se evidencia que posterior a la vacuna el testículo detiene su desarrollo y luego va recuperando progresivamente su tamaño. Además, se observa que no

existe diferencia estadística significativa con relación al largo del testículo, ya que el p-valor (0,8460) es mayor que el nivel de significancia (0,05). Sin embargo, no se observa diferencias en los valores de las medias, determinando que el valor de la media de la variable 2 es similar a la variable 1; por tanto, no existe efecto de la vacuna en relación al desarrollo testicular.

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 Diagnostico de AGROCALIDAD, y el laboratorio de Diagnóstico Veterinario ANIMALAB, presentamos a continuación el análisis de los immunoesterilizados y grupo control o testigo respectivamente.

En relación a la aplicación de vacuna anti-GnRH, se estableció que su efecto en los CANIS LUPUS FAMILIARIS su efecto es dosis dependiente; ya que así refleja, su acción a nivel del eje hipotálamo- hipófisis –gonadal, y que su efecto se produciría a partir de la segunda dosis, además la respuesta inmunitaria medida por el análisis de inmunoglobulinas no determino cambios importantes; por lo tanto los niveles hormonales de concentración sérica de LH, FSH, testosterona no demostraron cambios significativos. Estos leves desniveles hormonales se ven reflejados en la disminución de los rangos en relación al ancho más que a la longitud testicular. Así, el mayor efecto en relación a los rangos de niveles de concentración hormonal se presentó en el grupo de los tratamientos de la variable 2 en relación a la variable 1; por lo tanto, la vacuna posiblemente estaría retrasando el crecimiento gonadal. 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).

Además, se encontraron pocas diferencias en los túbulos seminíferos respecto a sus medidas; el diámetro mayor y menor tubular no disminuyó considerablemente, estableciendo diferencias únicamente numéricas entre los grupos de los tratamientos respecto al grupo control. Se observaron capas de células mioides 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.

Se analizaron las muestras de los testículos tanto del grupo control como el tratamiento, identificables por su estructura macroscópica conservada, donde puede evidenciarse que son maduros sexualmente por la presencia de células espermáticas en todas sus fases de desarrollo. Sin embargo, en el grupo del tratamiento se encontraron células atrofiadas en menor grado y número, carentes de gotas citoplasmáticas neutras, indicativas de lípidos, y su citoplasma ligeramente pálido. En el parénquima testicular de los inmunoesterilizados se observaron túbulos seminíferos sin lumen, con pocas espermátidas elongadas y con presencia de espermatozoides. Los túbulos seminíferos evidencian escasa atrofia del epitelio germinal. Persisten las células de Sertoli, identificables por sus núcleos basales característicos. La muestra incluye segmentos de epidídimo (cabeza, cuerpo y cola), en las que se evidencia ausencia y presencia de espermatozoides en la luz tubular. Así, 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, además, el número de espermatogonias depende del número de células de Sertoli. Al no existir disminución marcada de FSH como consecuencia esta no produciría muerte de las células germinales, y por lo tanto la producción de espermatozoides se consideró adecuada en el grupo control y comparable al grupo de tratamiento. Así, el efecto individual en los inmucastrados presentaron túbulos seminíferos con escaso lumen y linaje espermatogónico poco disminuido; sin embargo, los del grupo control presentaron túbulos seminíferos con lumen, con el linaje espermatogónico completo y abundantes espermatozoides. Además, cada túbulo se encontraba limitado por una membrana basal delgada, y una mono capa de células mioideas; el mediastino testicular, presenta 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 tamaños de los testículos (largo y ancho), estos datos se relaciona directamente con los pesos de los testículos derecho e izquierdo, demostrando una reducción numérica insuficientemente significativa, considerando como principal factor la dosis de vacuna y su frecuencia de aplicación respecto con la 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 madures sexual, y esta podría verse influenciada con la fisiología o fisiopatología del eje hipotálamo hipófisis- gonadal.

Es importante señalar que en el análisis macroscópico en algunos individuos se observó aparentemente ligera atrofia y endurecimiento testicular, así como la pérdida de elasticidad escrotal. Las características morfométricas testiculares se redujeron levemente 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 la especie – *Canis lupus familiaris* y que su efecto está supeditado a dosis y frecuencia de aplicación de la vacuna, comparada con los efectos en la especie porcina para la que fue creada la vacuna reportándose efectos importantes en el eje-hipotálamo gonadal.

12. IMPACTOS (TÉCNICOS, SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS):

a. Técnico:

- Se generó supresión de las hormonas sexuales masculinas
- Puede ser una alternativa a la castración quirúrgica

b. Social:

- Control poblacional de los perros callejeros

c. Ambiental:

- No se produjo

13. PRESUPUESTO DEL PROYECTO:

Recursos	Cantidad	Unidad	V. Unitario \$	Valor Total
Tubos Vacutiner® Tapa Roja sin anticoagulante	1	8	1.10	8.80
Análisis FSH	1	8	28	224
Análisis de LH	1	8	28	224
Análisis Testosterona	1	8	30	240
Análisis de IGg	1	8	26	208
Análisis histopatológicos de los testículos	1	12	12	144
Muestras de sangre	1	8	0	0
Vacunas inmunológica	1	1	160	160
TOTAL				\$ 1208.8

14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

14.1 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 Canis Lupus Familiaris.
- Respecto a la aplicación de la vacuna, se estableció que el canis lupus familiares es dosis dependiente y su frecuencia de aplicación es determinante para generar efecto modulador del eje hipotálamo- hipófisis – gonadal.
- La vacuna demostraría su efecto a partir de la segunda dosis; así, respecto a la morfometría testicular se evidencia que produce reducción muy ligera del tamaño de los testículos, escasa hipotrofia testicular, demostrando una ligera reducción en el diámetro testicular, no incidiendo de manera macada en la fisiología gonadal. Así, al análisis microscópico de los tejidos gonadales se observa muy pocas diferencias de hipotrofia en las estructuras, demostrando casi nula reducción del diámetro mayor y menor de los túbulos seminíferos, así, como de espermatogonias y espermatozoides.
- En relación a la dinámica de concentración de hormonas sexuales masculinas estas presentaron ligeros desniveles en su concentración sérica, efecto inmunosupresor generado por la dosis de vacuna aplicada; sin embargo, para generar el efecto es necesario una segunda inoculación.

14.2 Recomendaciones

- Con la técnica empleada en el presente estudio (immunocastración), se recomienda aplicar la vacuna anti-GnRH en canis lupus familiaris a la mitad de la dosis recomendada en porcinos (1ml), además dependiendo del peso del animal, con un intervalo de 15 a 21 días para producir un efecto inmunosupresor del eje hipotálamo – hipófisis gonadal.

Dosis 0,3 – 0,5 ml en individuos de 600 Gr a 5 Kg de peso

Dosis 0,5 – 1 ml en individuos de 5 kg a 15 Kg de peso

Dosis 1 – 1,5 ml en individuos de 15 kg a 30 Kg de peso

Dosis 1,5 - 2 ml en individuos de 30 kg en adelante

- Posibilitar la implementación de la técnica de inmuoesterilización en un mayor número de animales tanto machos como hembras, y valorar el factor de estrés generado por la vacuna.
- Realizar estudios acerca de la viabilidad de aplicación de la vacuna 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 inmuoesterilización en los animales inoculados y su efecto en la fertilidad.
- Considérese a la inmuoesterilización como una alternativa muy atractiva y económicamente aplicable, respecto a la castración quirúrgica.

15. BIBLIOGRAFIA

LIBROS

1. **ADAGIO, L. (2011).** Efectos del antiestrógeno citrato de tamoxifeno en parámetros semiológicos. *Ciencia Veterinaria*, 25.
2. **ALDAZ, A. (2012).** Cerdos Inmunocastrados. Mexico: V Congreso del Colegio Latinoamericano de.
3. **ARCE, V., CATALÍNA, P., MALLO, & Federico. (2006).** Endocrinología. Santiago: Universidad de Santiago de Compostela.
4. **ASPINALL, V., & O'REILLY, M. (2004).** INTRODUCCIÓN A LA ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA VETERINARIA. Zaragoza: Elsevier.
5. **BRUNTON, L., CHABNER, B., & KNOLMANN, B. (2012).** Las bases farmacológicas de la Terapéutica (Decima Segunda ed.). México: McGraw-Hill.
6. **CUNNINGHAM, J. (2003).** Fisiología reproductora del macho. En *Fisiología veterinaria* (págs. 374-379, 421-427). Madrid: ES. ELSEVIER.

7. **CARAVACA. (2003).** BASES DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL. Sevilla: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, Córdoba y Huelva.
8. **DYCE, SACK, & WENSING. (2007).** ANATOMÍA VETERINARIA. México: Manual Moderno.
9. **FLORES, J. (2008).** Farmacología Humana (Quinta ed.). Barcelona: Elsevier Masson.
10. **FORTOUL, T. (2013).** HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES S.A.
11. **GARTNER, L., & HIATT, J. (2008).** ATLAS COLOR DE HISTOLOGÍA. Buenos Aires: Panamericana.
12. **HAFEZ. (2000).** REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES.
13. **ITURRIAGA, S. L. (2012).** Estrategias Inmunológicas para el control de la población canina. Chile: Centro Biotecnológico BIOVETEC.
14. **KÖNIG, H., & LIEBICH, G. (2011).** Anatomía de los animales domésticos Tomo 2. Buenos Aires: Panamericana.
15. **MADDISON, J., PAGE, S., & CHURCH, D. (2004).** Farmacología clínica en pequeños animales. Buenos Aires: Inter-Médica.
16. **MATUTE, J. C. (2013).** CRIANZA Y ENGORDA DE CERDOS (*Sus scrofa domestica*) BAJO DOS TÉCNICAS DE CASTRACIÓN.
17. **PTASZYNSKA. (2007).** Evaluación de la eficacia del péptido sintético análogo del GnRH con toxoide diftérico, como método contraceptivo en *Canis lupus familiaris* machos en el cantón Primavera, municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador.
18. **SALAZAR, PERATA, & PASTOR. (2009).** Tratado de Psicofarmacología. Madrid: Panamericana.
19. **SUMANO, H., & OCAMPO, L. (2006).** Farmacología Veterinaria (Tercera ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.

20. **WELSCH, U., & DELLER, T. (2010).** HISTOLOGÍA. Madrid: Panamericana.
21. **Whitten, F. (1984).** Evaluación de la eficacia del péptido sintético análogo del GnRH con toxoide diftérico, como método contraceptivo en *Canis lupus familiaris* machos en el cantón Primavera, municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador.

INTERNET

- a. ABREU, L. (2006). *Análogos do GnRH: Bases Moleculares en Aplicações em Reprodução Assistida*. Recuperado el 8 de Junio de 2015, de http://www.febrasgo.org.br/site/wp-content/uploads/2013/05/Femina_34-6-401.pdf
- b. ADAGIO, L. (2011). Efectos del antiestrógeno citrato de tamoxifeno en parámetros semiológicos. *Ciencia Veterinaria*, 25.
- c. ALDAZ, A. (2012). *Cerdos Inmunocastrados*. Mexico: V Congreso del Colegio Latinoamericano de.
- d. ARCE, V., CATALÍNA, P., MALLO, & FEDERICO. (2006). *Endocrinología*. Santiago: Universidad de Santiago de Compostela.
- e. ASPINALL, V., & O'REILLY, M. (2004). *INTRODUCCIÓN A LA ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA VETERINARIA*. Zaragoza: Elsevier.
- f. BARZALLO, M. (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 friesland*. Recuperado el 1 de Junio de 2015, de <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5325/1/UPS-CT002766.pdf>
- g. BASULTO, R. (2003). *Efectos de la inmunización contra GnRH sobre la estructura y función testicular en perros adultos*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>

- h. BASULTO, R. (12 de Mayo de 2003). *Efectos de la Inmunización contra GnRH sobre la estructura y función testicular en perros adultos*. Obtenido de Google: <http://elfoscientiaie.cigb.edu.cu>
- i. BLASCO, L., ARMIJO, O., CASTRO, B., LOBO, S., GONZÁLEZ, C., MONTEJO, J., 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*. Recuperado el 6 de Junio de 2015, de <http://www.scielo.cl/pdf/rchog/v76n5/art02.pdf>
- j. BRANDAN, N. (2002). *Hormonas Hipotalamo-Hipofisarias*. Recuperado el 24 de Mayo de 2015, de <http://www.uaz.edu.mx/histo/biologia/faiunnear/pdf/hipofisis.pdf>
- k. BRUNTON, L., CHABNER, B., & KNOLMANN, B. (2012). *Las bases farmacológicas de la Terapéutica* (Decima Segunda ed.). México: McGraw-Hill.
- l. BRUSONI. (2007). *Métodos para el control de poblaciones*. Obtenido de [file:///C:/Users/Personal/Downloads/154-324-1-SM%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Personal/Downloads/154-324-1-SM%20(1).pdf)
- m. CADENA, B. (11 de Diciembre de 2013). *Estudio para la estimación de la población de perros callejeros en Mercados*. Obtenido de <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2692/1/109108.pdf>
- n. CARAVACA. (2003). *Bases de la producción animal*. España.
- o. CARAVACA. (2003). *BASES DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL*. Sevilla: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, Córdoba y Huelva.
- p. CATHEY, M. (Abril-Mayo de 2010). *Veterinary Medicine*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de Google: http://vetmedicineespanol.com.mx/data/vetmedicineespanol/files/pdf/pdf_en_baja.pdf
- q. CHANTLER, A. (2012). *Google*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>
- r. COUTO, N. (2000). *Manual de medicina interna de animales pequeños: testosterona*.
- s. CUNNINGHAM. (2003). Obtenido de <http://ri.ues.edu.sv/6497/1/13101566.pdf>
- t. CUNNINGHAM, J. (2003). *Fisiología reproductora del macho*. En *Fisiología veterinaria* (págs. 374-379, 421-427). Madrid: ES. ELSEVIER.

- u. CUNNINGHAM, J. (2008). *Fisiología Veterinaria*. Barcelona: Elsevier España.
- v. D'HONDT, FEDOROVA, PENG, GEVAERT, TAEVERNIER, HOFFMANN, y otros. (2014). *Calor seco degradación de obligado buserelina cinética y perfiles de degradación: péptido*. Recuperado el 10 de Junio de 2015, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24657556>
- w. DONOVAN. (2013). Obtenido de <http://ri.ues.edu.sv/6497/1/13101566.pdf>
- x. DONOVAN, C. (2013). Applications of GnRH Immunization in Domestic Dogs. 2017, Enero, 17: <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>.
- y. DRUG, B. C. (2007). *Buserelin*. Recuperado el 29 de Mayo de 2015, de http://www.bccancer.bc.ca/drug-database-site/Drug%20Index/Buserelin_monograph_1March2012.pdf
- z. DYCE, SACK, & WENSING. (2007). *ANATOMÍA VETERINARIA*. México: Manual Moderno.
- aa. EMA, s. f. (12 de Mayo de 2013). Recuperado el 17 de Enero de 2017, de FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO: <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>
- bb. FLORES, J. (2008). *Farmacología Humana* (Quinta ed.). Barcelona: Elsevier Masson.
- cc. FORTOUL, T. (2013). *HISTOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR*. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES S.A.
- dd. GARTNER, L., & HIATT, J. (2008). *ATLAS COLOR DE HISTOLOGÍA*. Buenos Aires: Panamericana.
- ee. GHEZZI, M. (2004). *Área de Anatomía de los animales domésticos*. Recuperado el 15 de Julio de 2015, de <http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Areas/Documentos/Anatomia%20I%20y%20II/2011/PDF/GENITAL%20MASCULINO%20ANATOMIA%20II.pdf>
- ff. GUEZZI, M. (2004). *Área de Anatomía de los animales domésticos*.
- gg. HAFEZ. (2000). *REPRODUCCIÓN E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ANIMALES*. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES.

- hh. ITURRIAGA, S. L. (2012). *Estrategias Inmunológicas para el control de la población canina*. Chile: Centro Biotecnológico BIOVETEC.
- ii. JÁCOME, E. (26 de Noviembre de 2013). *Perros muertos, problema de salud*. Obtenido de Google: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2692/1/109108.pdf>
- jj. KÖNIG, H., & LIEBICH, G. (2011). *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2*. Buenos Aires: Panamericana.
- kk. LIMA, A. (2008). *Experiencia con el uso de antagonistas de la GnRH en fertilización asistida*. Recuperado el 11 de Junio de 2015, de http://www.samer.org.ar/revista/numeros/2008/n3/2_experiencia.pdf
- ll. LÓPEZ, E. (Julio de 2009). *La Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) y su papel en la reproducción bovina*. Recuperado el 24 de Mayo de 2015, de <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/143/1/EricLopezLanda.pdf>
- mm. LÓPEZ, M. (2008). *Calidad folicular: agonistas versus antagonistas de la GnRH en una población de buen pronóstico*. Recuperado el 29 de Mayo de 2015, de <http://hera.ugr.es/tesisugr/17569461.pdf>
- nn. MADDISON, J., PAGE, S., & CHURCH, D. (2004). *Farmacología clínica en pequeños animales*. Buenos Aires: Inter-Médica.
- oo. MARÍA. (2014). *Efecto modulador de agonistas de GnRH en los proceso de apoptosis en las células de la granulosa del ovario de la gallina domésticas (Gallusgallusdomesticus)*.
- pp. MARTIN, B. (31 de 5 de 2016). *NOMBRE CIENTIFICO DEL PERRO información completa*. Recuperado el 02 de 02 de 2017, de Google: <http://www.hermanoperro.com/nombre-cientifico-del-perro/>
- qq. MARTINEZ, L. (27 de Julio de 2014). *CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA: DEL PERRO*. Obtenido de <http://naturalesperro01.blogspot.com/>
- rr. MATAMOROS, R. (2002). *Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de

- <http://mingaonline.uach.cl/pdf/amv/v34n2/art03.pdf>:
<https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>
- ss. MATUTE, J. C. (2013). CRIANZA Y ENGORDA DE CERDOS (Sus scrofa domestica) BAJO DOS TÉCNICAS DE CASTRACIÓN.
- tt. MUÑOZ, R. (Agosto de 2011). Métodos para el control de poblaciones caninas. *Sapuvet de Salud Pública*, <https://core.ac.uk/download/pdf/31084549.pdf?repositoryId=342>.
- uu. NWRC. (2013). *Development of Injectable and Oral Contraceptive Technologies and Their Assessment for Wildlife Population and Disease Management*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>
- vv. PAE. (Diciembre de 2011). *Estudio para la estimación de la población de perros callejeros en Mercados*. Obtenido de Google: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2692/1/109108.pdf>
- ww. PTASZYNSKA, M. (2007). *Compendio de Reproducción Animal*. Uruguay.
- xx. REVELO, M. (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)*. Recuperado el 29 de Mayo de 2015, de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/1474/1/T-SENESCYT-00608.pdf>
- yy. RUBIO MANUEL. (11 de 12 de 2012). *La esterilización de perros de caza: ventajas e inconvenientes*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de Google: <http://www.elcotodecaza.com/reportaje/perros/esterilizacion-perros-caza-ventajas-inconvenientes-121211>
- zz. SALAZAR, PERATA, & PASTOR. (2009). *Tratado de Psicofarmacología*. Madrid: Panamericana.
- aaa. SUMANO, H., & OCAMPO, L. (2006). *Farmacología Veterinaria* (Tercera ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- bbb. VALERA, M. Á. (2017). *REPRODUCCIÓN CANINA*. Recuperado el 31 de 01 de 2017, de Google: http://www.academia.edu/8550896/Reproduccion_Canina

- ccc. WAITE, K. (2006). *Generation of a FHV-1 Viral Vaccine Against Gonadotropin Releasing Hormone for Immunocontraception of Felines*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <https://core.ac.uk/download/files/342/31084549.pdf>
- ddd. WELSCH, U., & DELLER, T. (2010). *HISTOLOGÍA*. Madrid: Panamericana.
- eee. WHITTEN, F. (1984). *Evaluación de la eficacia del péptido sintético análogo del GnRH con toxoide diftérico, como método contraceptivo en Canis lupus familiaris machos en el cantón Primavera, municipio de Santa Ana, departamento de Santa Ana, El Salvador*.
- fff. WHO, W. H., & WSPA, W. S. (1990). *Google*. Recuperado el 31 de 01 de 2017, de Google:
<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/133991/Estimaci%C3%B3n-de-la-poblaci%C3%B3n-canina-callejera-y-supervisada-en-las-calles-de-la-ciudad-de-Santiago,-Regi%C3%B3n-Metropolitana.pdf?sequence=1>
- ggg. WORDPRES. (2012). *Improvac inmunocastración con resultados sorprendentes*. Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/542/1/T-UTEQ-0079.pdf>
- hhh. ZOETIS. (2012). Recuperado el 17 de Enero de 2017, de <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/542/1/T-UTEQ-0079.pdf>

16. ANEXOS.

ANEXO N.- 1 AVAL DE TRADUCCIÓN.

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro Cultural de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que: La traducción del resumen del proyecto investigativo al Idioma Inglés presentado por la señorita, Polo Calva Diana Fernanda egresada de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, cuyo título es, “EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ANÁLOGOS O ANTAGONISTAS DE GNRH COMO MODULADORES DE INMUNOCASTRACIÓN DE HORMONAS SEXUALES EN CANIS LUPUS FAMILIARIS”, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, Marzo 2017

Atentamente.-

.....

Msc. Edison Morales Pacheco Pruma

DOCENTE CENTRO CULTURAL DE IDIOMAS

C.I.: 050261735-0

ANEXO N.- 2 HOJA DE VIDA EQUIPO DE TRABAJO

**DATOS PERSONALES**

NOMBRES Y APELLIDOS: MIGUEL ÁNGEL GUTIÉRREZ REINOSO

FECHA DE NACIMIENTO: 24 / ABRIL / 1979

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 0502236623

NACIONALIDAD: ECUATORIANA

NUMEROS TELÉFONICOS: 0995407023

E-MAIL: mgutierrezreinoso@hotmail.com

ESTUDIOS REALIZADOS

NIVEL PRIMARIO: Escuela Isidro Ayora

NIVEL SECUNDARIO: Instituto Superior Vicente León

NIVEL SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi

NIVEL POSGRADO: Universidad Tecnológica Equinoccial – Maestría en Producción Animal.

NIVEL POSGRADO:

- Diploma: Universidad Austral de Chile – Facultad de Ciencias Veterinarias - CENEREMA
- Diploma: Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Complutense de Madrid – España.
- Estancia: Instituto de Reproducción Animal – INIA – Madrid España.
- Estancia: Laboratorio de Fertilización In vitro- INIA – Madrid España.
- Estancia: Instituto de Reproducción Animal – IRAC – Córdoba - Argentina
- Colaboración Científica: Laboratorio 108 de células troncales y transgénesis INIA Madrid-España.
- Cursos Varios de capacitación: Argentina – Chile, Perú, Colombia, Ecuador y España

ANEXO N.- 3 COORDINADOR DEL PROYECTO

**DATOS PERSONALES**

NOBRES Y APELLIDOS: Diana Fernanda Polo Calva

CÉDULA DE CIUDADANIA: 172162637-0

FECHA DE NACIMIENTO: 16 / FEBRERO / 1987

LUGAR DE NACIMIENTO: Ecuador/Pichincha/Quito

ESTADO CIVIL: Soltera

DIRECCIÓN: Conocoto

TELÉFONO: 022- 072-004 / 0987718961

E-MAIL: danapolca@hotmail.com

FORMACIÓN ACADÉMICA:

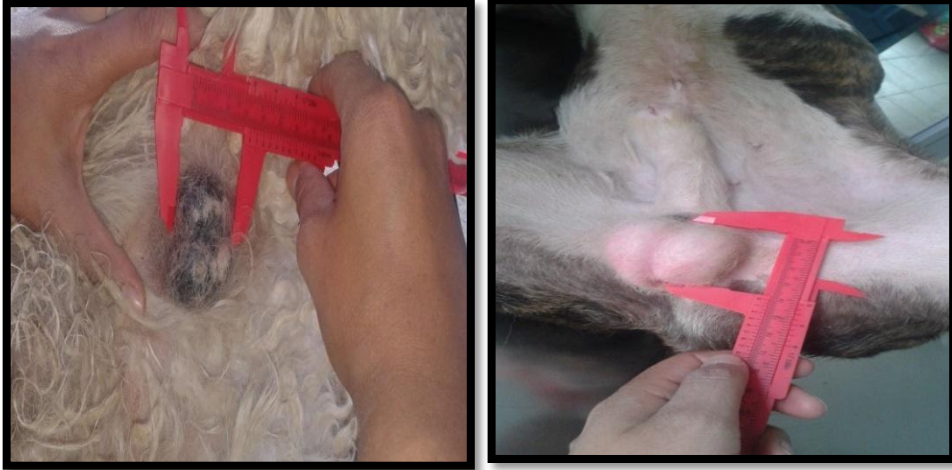
ESTUDIOS PRIMARIOS: Escuela Sagrado Corazón de Jesús “Bethlemitas” - Quito

ESTUDIOS SECUNDARIOS: Colegio Experimental “Juan Montalvo” - Quito

ESTUDIOS SUPERIORES: Universidad Técnica de Cotopaxi

ANEXO N.- 4 FOTOGRAFÍAS.

Fotografía 1. Medición Testicular



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

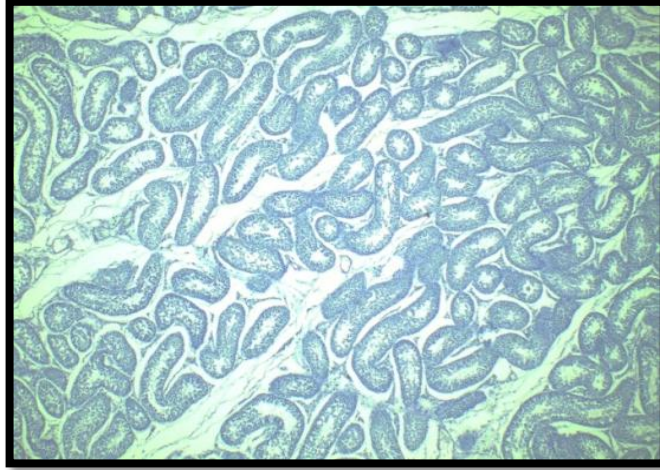
Fotografía 2. Aplicación del péptido sintético análogo del GnRH conjugado con toxoide de difteria.



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

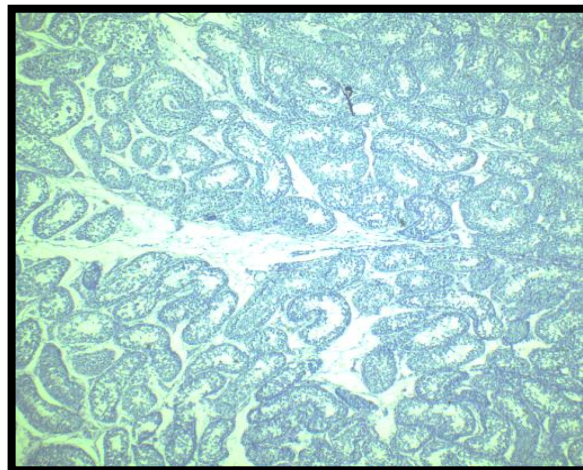
Fotografía 3. Placa histológica de túbulos seminíferos grupo testigos (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

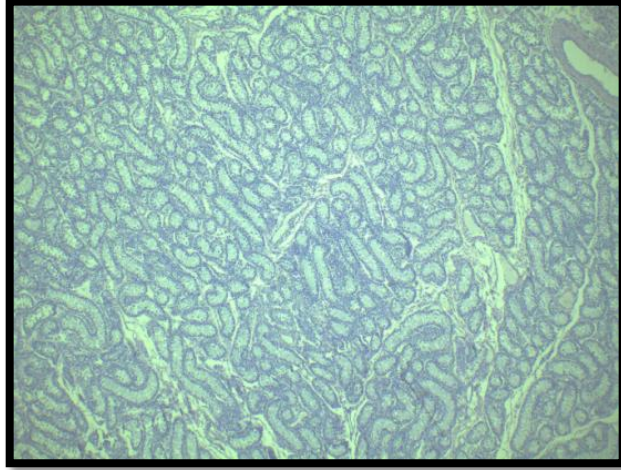
Fotografía 4. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 2 (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

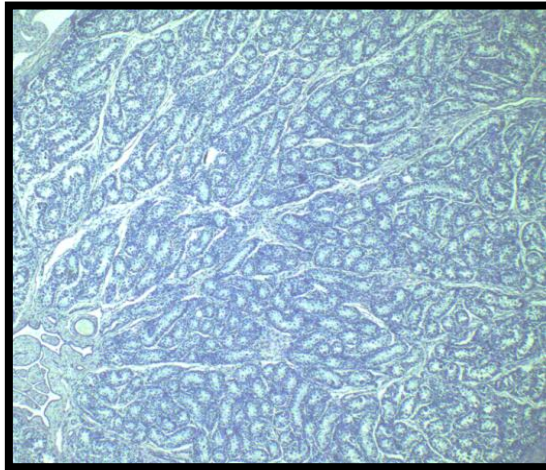
Fotografía 5. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 3 (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

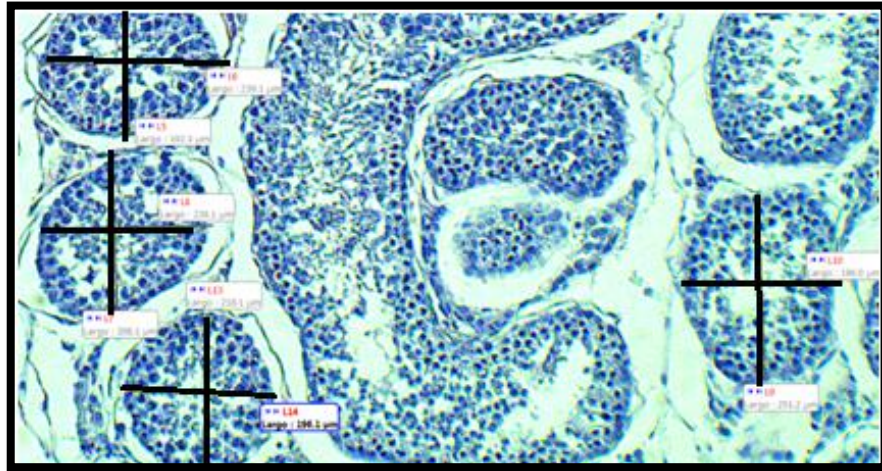
Fotografía 6. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 4 (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Fotografía 7. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo testigo (20x)

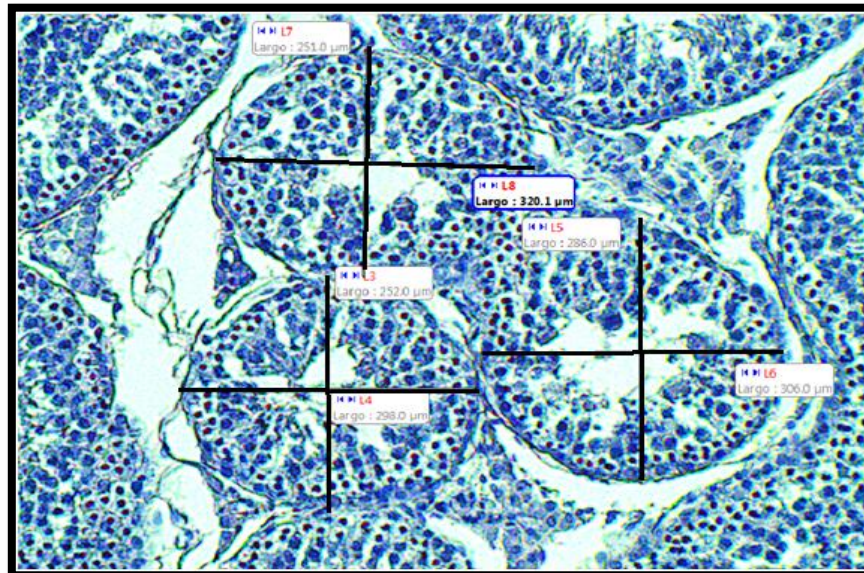


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Corte histológico de túbulos seminíferos: Medición con el programa MOTIC IMAGEN PLUS 2.0 ML del diámetro mayor y menor del túbulo.

Fotografía 8. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 2 (20x)

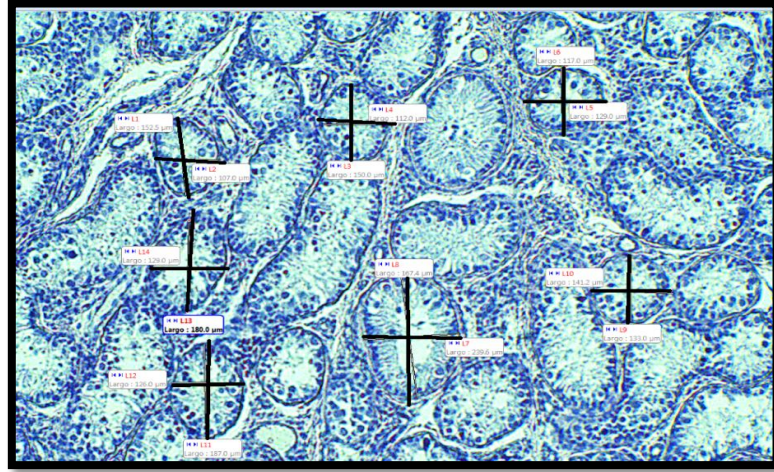


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Corte histológico de túbulos seminíferos: Medición con el programa MOTIC IMAGEN PLUS 2.0 ML del diámetro mayor y menor del túbulo.

Fotografía 9. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 3 (20x)

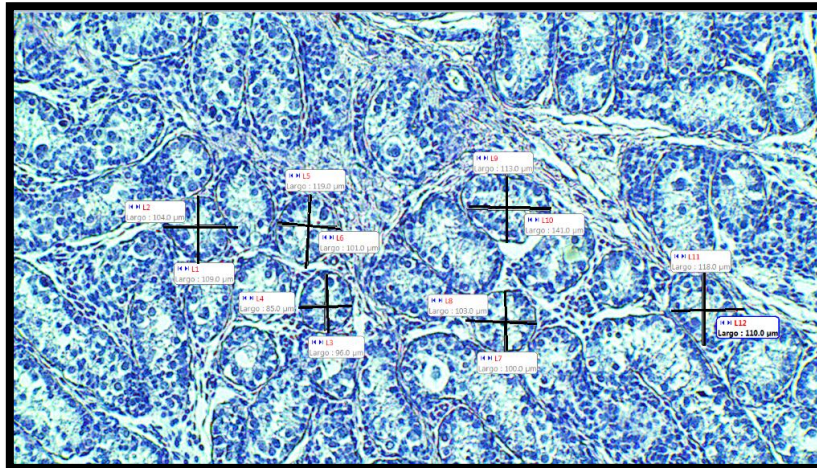


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Corte histológico de túbulos seminíferos: Medición con el programa MOTIC IMAGEN PLUS 2.0 ML del diámetro mayor y menor del túbulo.

Fotografía 10. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 4 (20x)

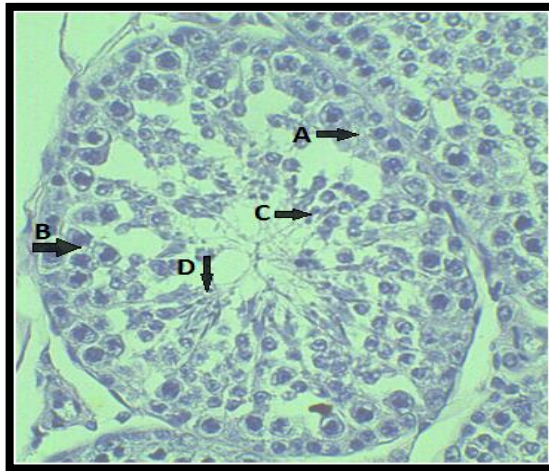


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

Corte histológico de túbulos seminíferos: Medición con el programa MOTIC IMAGEN PLUS 2.0 ML del diámetro mayor y menor del túbulo

Fotografía 11. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo testigo (40x)

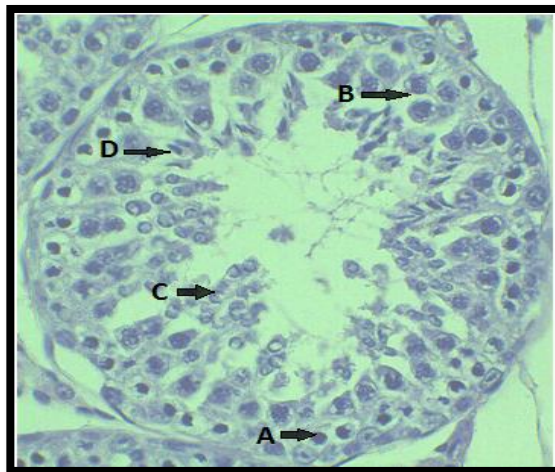


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

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

Fotografía 12. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 2 (40X)

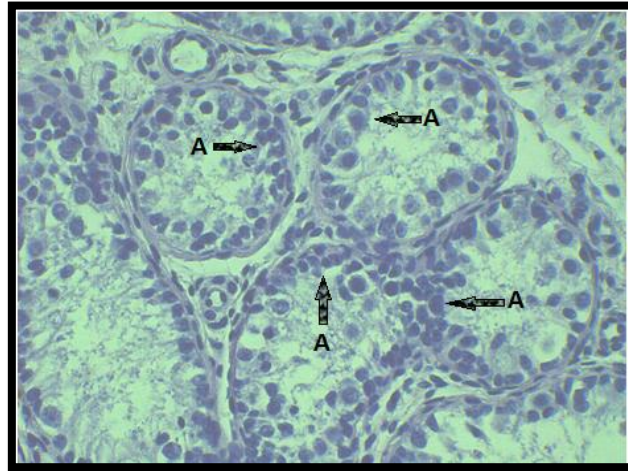


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

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

Fotografía 13. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 3 (40X)

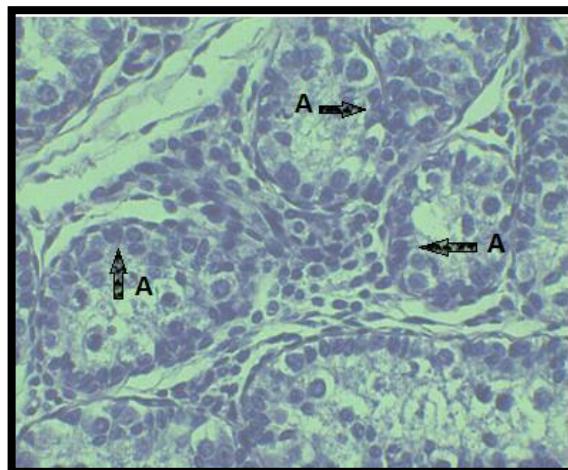


Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

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

Fotografía 14. Placa histológica de túbulos seminíferos, grupo tratamiento 4 (40X)




Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

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

ANEXO.- 5 Perfil hormonal pre experimentación lh

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**
Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No DE CASO: A-899-2016 CÓDIGO: PE8-020-2016
Fecha de recepción:	Miércoles, 19 de octubre dl 2016	
Fecha de realización:	Miércoles, 19 de octubre dl 2016	
Fecha de entrega:	Martes, 29 de noviembre del 2016	
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0987718961
RUC:	1721020370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: danapolca@hotmail.com
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z Hernán Calderón
ESPECIE:	Canina	RAZA: Bulldog Terrier
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS:	LH (Hormona Luteinizante)	
METODO:	ELISA.	
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente	
OBSERVACION:		

RESULTADOS

IDENTIFICACION	LH	UNIDAD	INTERPRETACION	
DOGGY	1.22	UI/l	0.12 - 4.03	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALB. CIA. LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALB. CIA. LTDA."

REV.05


S.G.C. ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005

6/6

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.-6 Perfil hormonal pre experimentación fsh

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**
Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No DE CASO: A-899-2016 CÓDIGO: QH13-001-2016
Fecha de recepción:	Miércoles, 19 de octubre dl 2016	
Fecha de realización:	Miércoles, 19 de octubre dl 2016	
Fecha de entrega:	Martes, 29 de noviembre del 2016	
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0987718961
RUC:	1721020370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: danapolca@hotmail.com
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z Hernán Calderón
ESPECIE:	Canina	RAZA: Bulldog Terrier
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS:	FSH (Hormona Foliculo Estimulante)	
METODO:	ELISA.	
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente	
OBSERVACION:		

RESULTADOS

IDENTIFICACION	FSH	UNIDAD	INTERPRETACION	
DOGGY	1.50	UI/l	0.56 - 8.92	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALB. CIA. LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALAB. CIA. LTDA."

REV.05

S.G.C. ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005

6/6

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.-7 Perfil hormonal pre experimentación testosterona

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB-19 01
		Revisión: 03
		Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No DE CASO: A-899-2016
		CÓDIGO: QH13-001-2016

Fecha de recepción: Miércoles, 19 de octubre dl 2016
Fecha de realización: Miércoles, 19 de octubre dl 2016
Fecha de entrega: Martes, 29 de noviembre del 2016

PROPIETARIO: Srta. Diana Polo TELÉFONO: 0987718961
RUC: 1721026370 UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA: Universidad Técnica MAIL: danapolca@hotmail.com
SOLICITANTE: Dr. Miguel Gutiérrez RESPONSABLE: M.V.Z Hernán Calderón
ESPECIE: Canina RAZA: Bulldog Terrier
EDAD: 1 Año SEXO: Macho
N° DE MUESTRAS: 1 TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS: FSH (Hormona Foliculo Estimulante)
MUESTRA: ELLSA.
MÉTODO: ELLSA.
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA: Muestra proporcionada por el cliente
OBSERVACION:

RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN	FSH	UNIDAD	INTERPRETACIÓN	N
DOGGY	150	UI/l	0.56 - 8.92	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALB. CIA LTDA.



M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL 'ANIMALAB CIA. LTDA.'

REV.03S.G.C. ANIMALAB ISO / IEC 17025:20056/6

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.-8 Perfil hormonal pre experimentación IgG

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB-19 01
		Revisión: 03
		Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No DE CASO: A-899-2016
		CÓDIGO: PE8-020-2016

Fecha de recepción: Miércoles, 19 de octubre dl 2016
Fecha de realización: Miércoles, 19 de octubre dl 2016
Fecha de entrega: Martes, 29 de noviembre del 2016

PROPIETARIO: Srta. Diana Polo TELÉFONO: 0987718961
RUC: 1721026370 UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA: Universidad Técnica MAIL: danapolca@hotmail.com
SOLICITANTE: Dr. Miguel Gutiérrez RESPONSABLE: M.V.Z Hernán Calderón
ESPECIE: Canina RAZA: Bulldog Terrier
EDAD: 1 Año SEXO: Macho
N° DE MUESTRAS: 1 TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS: Inmunoglobulina G (IgG)
MUESTRA: Turbidimetría Automatizadas
MÉTODO: Turbidimetría Automatizadas
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA: Muestra proporcionada por el cliente
OBSERVACION:

RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN	IgG	UNIDAD	INTERPRETACIÓN	N
DOGGY	1566.02	mg/dl	700 - 2000	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALB. CIA LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL 'ANIMALAB CIA. LTDA.'

REV.03S.G.C. ANIMALAB ISO / IEC 17025:20056/6

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.- 9 Perfil hormonal post experimentación lh

 **CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**
Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04		
		No DE CASO: A-976-2016 CÓDIGO: QH7-0022-2016		
Fecha de recepción:	Lunes, 21 de noviembre del 2016			
Fecha de realización:	Lunes, 21 de noviembre del 2016			
Fecha de entrega:	Jueves, 22 de diciembre del 2016			
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0957718961		
RUC:	1721626370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga		
FINCIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: danapolca@hotmail.com		
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z. Hernán Calderón		
ESPECIE:	Canino	RAZA: Bulldog Terrier		
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho		
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero		
PRUEBAS SOLICITADAS:	LH (Hormona Luteinizante)			
METODO:	ELISA.			
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente			
OBSERVACION:				
RESULTADOS				
IDENTIFICACIÓN	LH	UNIDAD	INTERPRETACIÓN	N
DOGGY	116	UI/l	0,12 - 4,05	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALAB CIA LTDA.



M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALAB CIA. LTDA."

REV.03 SGC ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005 2/2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.- 10 Perfil hormonal post experimentación fsh

 **CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**
Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04		
		No DE CASO: A-976-2016 CÓDIGO: QH13-002-2016		
Fecha de recepción:	Lunes, 21 de noviembre del 2016			
Fecha de realización:	Lunes, 21 de noviembre del 2016			
Fecha de entrega:	Jueves, 22 de diciembre del 2016			
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0957718961		
RUC:	1721626370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga		
FINCIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: danapolca@hotmail.com		
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z. Hernán Calderón		
ESPECIE:	Canino	RAZA: Bulldog Terrier		
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho		
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero		
PRUEBAS SOLICITADAS:	FSH (Hormona Foliculo Estimulante)			
METODO:	ELISA.			
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente			
OBSERVACION:				
RESULTADOS				
IDENTIFICACIÓN	FSH	UNIDAD	INTERPRETACIÓN	N
DOGGY	103	UI/l	0,56 - 8,92	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALAB CIA LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALAB CIA. LTDA."

REV.03 SGC ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005 2/2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.- 11 Perfil hormonal post experimentación testosterona

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No. DE CASO: A-976-2016 CÓDIGO: QH3-002-2016
Fecha de recepción:	Lunes, 21 de noviembre del 2016	
Fecha de realización:	Lunes, 21 de noviembre del 2016	
Fecha de entrega:	Jueves, 22 de diciembre del 2016	
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0987718961
RUC:	1721020370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: dianapolo@hotmail.com
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Canina	RAZA: Bulldog Terrier
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS:	TESTOSTERONA	
METODO:	ELISA.	
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente	
OBSERVACION:		

RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN	TESTOSTERONA	UNIDAD	INTERPRETACIÓN		UNIDAD
			Basal	Después de entrenamiento	
DOGGY	4.08	ng/mL	0.50 - 8.25	X = 18.20	ng/mL

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALAB CIA. LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALAB CIA. LTDA."

REV.03 S.G.C. ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005 2/2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017

ANEXO.- 12 Perfil hormonal post experimentación IgG

**CENTRO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO VETERINARIO
"ANIMALAB CIA. LTDA."**

Direc.: Av. Pablo Guarderas y Mariana de Jesús
Telfs.: Of. 022314376 / Cel.: 0984 484 385 / 0997 984 371 • Mail: c.d.c.v.animalab@hotmail.com
Machachi - Ecuador

INFORME DE RESULTADOS		Código: R POE AB- 19 01 Revisión: 03 Fecha de Aprobación: 2016 -02- 04
		No. DE CASO: A-976-2016 CÓDIGO: PE3-021-2016
Fecha de recepción:	Lunes, 21 de noviembre del 2016	
Fecha de realización:	Lunes, 21 de noviembre del 2016	
Fecha de entrega:	Jueves, 22 de diciembre del 2016	
PROPIETARIO:	Srta. Diana Polo	TELÉFONO: 0987718961
RUC:	1721020370	UBICACIÓN: Cotopaxi-Latacunga-Latacunga
HACIENDA:	Universidad Técnica	MAIL: dianapolo@hotmail.com
SOLICITANTE:	Dr. Miguel Gutiérrez	RESPONSABLE: M.V.Z. Hernán Calderón
ESPECIE:	Canina	RAZA: Bulldog Terrier
EDAD:	1 Año	SEXO: Macho
Nº DE MUESTRAS:	1	TIPO DE MUESTRA: Suero
PRUEBAS SOLICITADAS:	Immunoglobulina G (IgG)	
METODO:	Turbidimetría Automatzizadas	
TÉCNICO QUE TOMO LA MUESTRA:	Muestra proporcionada por el cliente	
OBSERVACION:		

RESULTADOS

IDENTIFICACIÓN	IgG	UNIDAD	INTERPRETACIÓN	
DOGGY	1250.70	mg/dl	700 - 2000	N

Estos resultados son válidos solo para la (s) muestra (s) analizada(s) y se prohíbe la reproducción parcial o total de este documento, sin la autorización de ANIMALAB CIA. LTDA.


M.V.Z. HERNÁN CALDERÓN
GERENTE GENERAL "ANIMALAB CIA. LTDA."

REV.03 S.G.C. ANIMALAB ISO/IEC 17025:2005 2/2

Fuente: Directa

Elaborado por: POLO, Diana, 2017