

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

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



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**“EFECTO DE LA INMUNOESTERILIZACIÓN COMO ALTERNATIVA
A LA ESTERILIZACIÓN QUIRÚRGICA TRADICIONAL EN
DIFERENTES PARÁMETROS HORMONALES EN LAGOMORFOS
(Oryctolagus cuniculus) COMO MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL”**

POSTULANTE

MARIO ORLANDO CHULLI CAGUANA

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. MIGUEL GUTIERREZ REINOSO

LATACUNGA – ECUADOR

2015

AUTORIA

Yo, **Chulli Caguana Mario Orlando**, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, por hacer hincapié que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Universidad Técnica de Cotopaxi, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

.....
Chulli Caguana Mario Orlando
AUTOR

CARTA DE APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Cumpliendo con el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Director de la Tesis con el Tema **“Efecto de la inmunoesterilización como alternativa a la esterilización quirúrgica tradicional en diferentes parámetros hormonales en Lagomorfos (Oryctolagus Cuniculus) como modelo experimental animal”**

Propuesto por el Egresado Chulli Caguana Mario Orlando con C.I:172105333-6.

Ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de defensa de tesis.

Particular que pongo en su conocimiento para los fines legales pertinentes.

Atentamente,

.....
Dr. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

Director de Tesis

CARTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TESIS

En calidad de Miembros del Tribunal de la Tesis de Grado titulada: **“Efecto de la inmuoesterilización como alternativa a la esterilización quirúrgica tradicional en diferentes parámetros hormonales en Lagomorfos (Oryctolagus Cuniculus) como modelo experimental animal”**.

Presentado por el estudiante, Chulli Caguana Mario Orlando, como requisito previo a la obtención del grado de Médico Veterinario Zootecnista de acuerdo con el Reglamento de Títulos y Grados, consideramos que el trabajo mencionado reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la presentación pública.

PRESIDENTE: Dr. Xavier Cristóbal Quishpe Mendoza Mg.....

OPOSITOR: PHD. Drobchak Volodymyr

MIEMBRO: MVZ. Paola Jael Lascano Armas

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por las bendiciones que ha derramado sobre mí y haberme guiado por un buen camino brindándome salud, sabiduría y constancia para lograr culminar una etapa más en mi vida.

A mis padres por su incondicional apoyo, por sus consejos y sacrificio que día a día realizaron para que pueda forjarme como una persona de bien y productiva para la sociedad, a mis hermanos Wilson Chulli y Lorena Chulli por siempre estar a mi lado siendo el apoyo y motivación para poder finalizar esta etapa en mi vida.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, a la Carrera de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales por haber abierto las puertas de tan prestigiosa institución.

A mi director de tesis Dr. Miguel Gutiérrez Reinoso un agradecimiento especial por toda su ayuda, apoyo en este presente trabajo y al Dr. Manuel García Herreros como asesor científico.

Al MVZ. Diego Medina un sincero agradecimiento quien mas que un docente ha sido un amigo, quien me guiado para llegar a ser un buen profesional.

Al Dr. Xavier Quishpe por su apoyo y ayuda durante todo este proceso quien ha sido un gran docente y amigo.

Finalmente agradezco a todas las personas, amigos y compañeros que de una manera directa o indirecta hicieron posible que esta meta se cumpla, por sus palabras de apoyo, animo e incondicional respaldo.

Mario Orlando Chulli Caguana

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico en primer lugar a Dios quien me ha dado el privilegio de la vida, que me ha llenado de valor, sabiduría y perseverancia para seguir y sobresalir día a día.

A mis queridos padres

Segundo Manuel Chulli Guamán

María Laura Caguana Yupangui

Por que día a día se sacrificaron para que pueda salir adelante, por darme la vida y guiarme por el camino del bien inculcándome buenos valores, por siempre estar a mi lado cuando mas los necesite y levantarme cada vez que he caído.

A mis Hermanos

Wilson Eduardo Chulli Caguana

Marcia Lorena Chulli Caguana

Por todo el apoyo y ayuda incondicional que he recibido tanto en los buenos momentos así como el los malos, por siempre estar ahí y escucharme y brindarme palabras de animo y sobretodo por su comprensión.

Mario Orlando Chulli Caguana

TEMA: EFECTO DE LA INMUNOESTERILIZACIÓN COMO ALTERNATIVA A LA ESTERILIZACIÓN QUIRÚRGICA TRADICIONAL EN DIFERENTES PARÁMETROS HORMONALES EN LAGOMORFOS (*Oryctolagus cuniculus*) COMO MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL.

RESUMEN

El objetivo de estudio fue determinar el efecto de la inmunoesterilización como alternativa a la esterilización quirúrgica tradicional en diferentes parámetros hormonales en lagomorfos (*Oryctolagus cuniculus*) como modelo experimental animal. Se seleccionaron 15 conejos machos de 4 meses de edad raza Neo Zelandés que fueron ubicados aleatoriamente en los tratamientos. El tratamiento de los Inmunoesterilizados consistió en aplicar 4 dosis de la vacuna anti-GnRH (INNOSURE® Pfizer Animal Health S.A) de 0,5ml a cada animal vía subcutánea, se analizo LH, FSH, Testosterona y Cortisol antes y después de la aplicación de la vacuna. El tratamiento de los Esterilizados Quirúrgicamente consistió someter a los animales a la técnica de esterilización tradicional para medir el nivel de estrés y dolor que sufren también se realizo un análisis de LH, FSH, Testosterona y Cortisol antes y después de la esterilización quirúrgica. El grupo de los animales testigos consistió en medir los niveles hormonales de LH, FSH, Testosterona y Cortisol. Se realizó un estudio morfométrico e histológico de los testículos de todos los animales. El tratamiento (IE) determinó una media de 0.29mUI/ml de LH, 0.12mUI/ml de FSH, 0.02ng/ml de Testosterona, 1.25ng/ml de cortisol post-experimentación. El tratamiento (EQ) determinó una media de 0.29mUI/ml de LH, 0.11mUI/ml de FSH, 0.02ng/ml de Testosterona, 3.05ng/ml de Cortisol post-experimentación. El grupo Testigo determinó una media de 0.37mUI/ml de LH, 0.11mUI/ml de FSH, 2.53ng/ml de Testosterona, 0.65ng/ml de cortisol post-experimentación. Las mediciones longitudinales de morfometría de testículo izquierdo determinó los siguientes datos: 2.10cm (IE), 2.82cm (EQ), 2.86cm (T). Las mediciones transversales de morfometría de testículo izquierdo determinó los siguientes datos: 0.98cm (IE), 1.68cm (EQ), 1.76cm (T). Las mediciones longitudinales de morfometría de testículo derecho determinó los siguientes datos: 2.32cm (IE), 3.12cm (EQ), 3.18cm (T). Las mediciones transversales de morfometría de testículo derecho determinó los siguientes datos: 1.08cm (IE), 1.84cm (EQ), 1.86cm (T). Las mediciones del diámetro mayor de los túbulos seminíferos determinó los siguientes datos: 77854,00 μm (IE), 181130,46 μm (EQ), 158442,76 μm (T). Las mediciones del diámetro menor de los túbulos seminíferos determinó los siguientes datos: 56322,20 μm (IE), 131817,58 μm (EQ), 113895,78 μm (T). Los resultados de la presente investigación muestran una significativa reducción en la concentración hormonal, así como también hipoplasia en los testículos y reducción del diámetro de los túbulos seminíferos de los animales inmunoesterilizados.

ABSTRACT

The research determined the effect of immunesterilization as an alternative to traditional surgical sterilization in different hormonal parameters in lagomorphs (*Oryctolagus cuniculus*) as animal model. They were selected 15 male rabbits of 4 months New Zealander race that were randomly selected in treatments. The treatment consisted of applying the Immunesterilized 4 doses of anti-GnRH (Pfizer Animal Health SA INNOSURE®) vaccine 0.5 ml to each animal via subcutaneous; it was analyzed LH, FSH, testosterone and cortisol before and after the application of the vaccine. The treatment consisted of surgically sterilized subjecting animals to traditional sterilization technique to measure the level of stress and pain suffering an analysis of LH, FSH, testosterone and cortisol before and after surgical sterilization. The group of control animals consisted of measuring hormone levels of LH, FSH, testosterone and cortisol. A morphometric and histological study of the testes of all animals performed. Treatment (IE) determined a average 0.29mUI / ml of LH, 0.12mUI / ml of FSH, 0.02ng / ml Testosterone, 1.25ng / ml cortisol post-testing. Treatment (EQ) determined a average 0.29mUI / ml of LH, 0.11mUI / ml of FSH, 0.02ng / ml Testosterone, 3.05ng / ml cortisol post-experiment. The group of control determined an average 0.37mUI / ml of LH, 0.11mUI / ml of FSH, 2.53ng / ml Testosterone, 0.65ng / ml cortisol post-experimentation. Morphometry longitudinal measurements of left testes determined the following: 2.10cm (IE), 2.82cm (EQ), 2.86cm (T). The transverse measurements of left testes morphometry determined the following: 0.98cm (IE), 1.68cm (EQ), 1.76cm (T). Morphometry longitudinal measurements of right testes determined the following: 2.32cm (IE), 3.12cm (EQ), 3.18cm (T). The transverse measurements morphometry right testicle determined the following: 1.08cm (IE), 1.84cm (EQ), 1.86cm (T). Measurements of the larger diameter of the seminiferous tubules determined the following: 77854.00 μm (IE), 181130.46 μm (EQ), 158442.76 μm (T). Measurements of the smaller diameter of the seminiferous tubules determined the following: 56322.20 μm (IE), 131817.58 μm (EQ), 113895.78 μm (T). The results of this research showed a significant reduction in hormone levels as well as hypotrophy in the testes and reduced diameter of the seminiferous tubules of the immunesterilized animals.

INTRODUCCIÓN

La castración quirúrgica es el método más empleado para suprimir la capacidad reproductiva de los animales domésticos (Krawiec DR. 1994). Una alternativa a la castración quirúrgica es la castración inmunológica, en la que los animales son inmunizados contra la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH o LHRH) (King JA, Millar RP. 1995).

La GnRH proteína propia y demasiado pequeña para atraer la atención del sistema inmune por lo que debe ser presentada mediante el empleo de moléculas portadoras. La inmunocastración es un método menos engorroso, no doloroso, éticamente viable, aplicable a mamíferos de ambos sexos (Hoskinson RM, Rigby RDG, Mattner PE, Huynh VL, D'Occhio M, Neish A, et al).

Uno de los sistemas para producir una inmuoesterilización es el basado en la administración de una vacuna anti-GnRH que inhibe el eje hipotálamo-hipófisis, responsable de la síntesis de hormonas esteroides, fundamentalmente progesterona y LH, que juegan un papel fundamental en el desarrollo y maduración sexual de los mamíferos. Dentro de los diferentes sistemas inmuocontraceptivos, la vacuna anti-GnRH se emplea de forma satisfactoria en la inmunocastración en cerdos de producción.

La vacuna (IMPROVAC®, Pfizer Animal Health S.A. España) contiene un análogo sintético de la GnRH natural que se conjuga con una proteína, de tal manera que el organismo reacciona inmunológicamente estimulando la producción de anticuerpos específicos contra la GnRH hipotalámica impidiendo que ésta se una a sus receptores y bloqueando así el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Al no ejercerse la acción de la GnRH no se estimula la producción hormona folículo-estimulante (FSH) ni hormona luteinizante (LH) hipofisarias, que son las encargadas del desarrollo reproductivo y sexual, que inducen la maduración de las gónadas, la producción esteroideogénica y el establecimiento del ciclo reproductivo en las hembras (M. Arias-Álvarez, R.M. García-García, P.G. Rebollar, L. Revuelta, P. Millán, P.L. Lorenzo).

La dosis inicial se encarga de crear células de memoria, pero no estimula una producción de anticuerpos activos. Al administrar la segunda dosis, el organismo reconoce el antígeno y se produce una respuesta incrementando la producción de anticuerpos. Es conveniente aplicar esta vacuna en animales jóvenes, antes de que se produzca el completo desarrollo reproductivo, dado que esto asegura una mayor eficacia (P.G. Rebollar A. Dal Bosco, P. Millán, R. Cardinali, G. Brecchia, L. Sylla, P.L. Lorenzo, C. Castellini).

Sin embargo, si no se lleva a cabo una revacunación continuada, algunos estudios apuntan a que el nivel de anticuerpos desciende y el efecto de la vacuna pasa a ser reversible (M. Arias-Álvarez, R.M. García-García, P.G. Rebollar, L. Revuelta, P. Millán, P.L. Lorenzo).

En este estudio se pretende valorar si es posible utilizar el conejo macho como modelo experimental para evaluar la eficacia de esta vacuna y sus consecuencias sobre hormonas como la LH, FSH y Testosterona. Además se ha querido analizar la morfometría testicular y los efectos sobre el tejido testicular.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la inmuoesterilización como alternativa a la esterilización quirúrgica tradicional en diferentes parámetros hormonales en lagomorfos (*Oryctolagus cuniculus*) como modelo experimental animal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la concentración hormonal (LH, FSH, testosterona, cortisol) en los animales castrados quirúrgicamente versus los inmuoesterilizados.
- Determinar si se producen cambios morfológicos a nivel histológico en las estructuras y tejidos de los testículos de los animales inmuoesterilizados.
- Comparar la morfometría testicular de los animales castrados quirúrgicamente versus los inmuoesterilizados y determinar si existe variación en cuanto a su tamaño.

Índice

| | |
|---|------|
| Portada | i |
| Autoría | ii |
| Carta de aprobación del director de tesis | iii |
| Carta de aprobación del tribunal de tesis | iv |
| Agradecimiento | v |
| Dedicatoria | vi |
| Resumen | vii |
| Abstract | viii |
| Introducción..... | ix |
| Objetivos | x |
| Índice..... | xi |

Capítulo I

| | |
|---|----|
| 1. REVISIÓN DE LITERATURA | 1 |
| 1.1. Generalidades del Conejo | 1 |
| 1.2. Anatomía del Aparato Reproductor del Macho | 1 |
| 1.2.1. Testículos | 2 |
| 1.2.1.1. Cápsula Testicular | 2 |
| 1.2.1.2. Estructura de los testículos | 2 |
| 1.2.2. Epidídimo..... | 4 |
| 1.2.3. Glándulas accesorias..... | 4 |
| 1.2.3.1. Glándula vesicular | 5 |
| 1.2.3.2. Propróstata..... | 5 |
| 1.2.3.3. Próstata..... | 5 |
| 1.2.3.4. Parapróstata | 6 |
| 1.2.3.5. Glándula Bulbouretral..... | 6 |
| 1.2.3.6. Conducto deferente | 6 |
| 1.2.3.7. Uretra | 7 |
| 1.3. Fisiología del Aparato Reproductor del Macho | 7 |
| 1.3.1. Regulación de la reproducción en el macho | 7 |
| 1.3.2. Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas | 8 |
| 1.4. Histología del testículo | 9 |
| 1.4.1. Cápsula testicular | 9 |
| 1.4.2. Túbulos seminíferos | 10 |

| | |
|--|----|
| 1.4.3. Epitelio Germinativo | 10 |
| 1.4.3. Capa Limitante o Túnica propia | 11 |
| 1.4.4. Células de Sertoli..... | 12 |
| 1.4.5. Células de Leydig..... | 13 |
| 1.5. Técnicas histológicas..... | 14 |
| 1.5.1. Introducción | 14 |
| 1.5.2. Fijación | 14 |
| a) Velocidad de penetración | 15 |
| b) Velocidad de fijación | 15 |
| c) Endurecimiento | 15 |
| d) Ósmosis y pH..... | 15 |
| e) Efecto mordiente | 16 |
| f) Artefactos..... | 16 |
| 1.5.2.1. Métodos de fijación | 16 |
| a) Inmersión..... | 17 |
| b) Perfusión..... | 17 |
| 1.5.2.2. Fijadores..... | 18 |
| a) Alcohol etílico..... | 19 |
| b) Ácido acético | 19 |
| c) Ácido pícrico..... | 19 |
| d) Formaldehído | 19 |
| e) Glutaraldehído..... | 20 |
| 1.5.3. Inclusión..... | 20 |
| 1.5.3.1 Inclusión en parafina..... | 20 |
| 1.5.4. Corte | 21 |
| a) Micrótopo para parafina | 22 |
| b) Vibratomo | 22 |
| c) Micrótopo de congelación | 22 |
| 1.5.5. Tinción | 22 |
| a) Básicos:..... | 23 |
| b) Ácidos..... | 23 |
| c) Neutros..... | 23 |
| d) Indiferentes | 23 |
| e) Tinción general..... | 24 |
| 1.6. CASTRACIÓN QUIRÚRGICA (ORQUIECTOMIA)..... | 24 |
| 1.7. INMUNOCASTRACIÓN O CASTRACIÓN INMUNOLÓGICA..... | 25 |

| | |
|---|----|
| 1.7.1 Innosure (Pfizer)..... | 26 |
| 1.7.1.1 Mecanismo de acción..... | 26 |
| 1.7.1.2 Composición..... | 26 |
| 1.7.1.3 Dosis y Administración..... | 27 |
| 1.7.1.4 Contraindicaciones | 27 |
| 1.7.1.5 Posología y administración | 27 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 28 |
| 2.1. Ubicación del Experimento | 28 |
| 2.2. Recursos Materiales | 28 |
| 2.2.1. Biológicos | 29 |
| 2.2.2. Materiales de oficina | 29 |
| 2.3. Tipo de Investigación | 30 |
| 2.3.1. Descriptiva | 30 |
| 2.3.2. Exploratoria..... | 30 |
| 2.3.3. Explicativa | 30 |
| 2.4. Metodología..... | 31 |
| 2.4.1 Métodos | 31 |
| 2.4.1.1. Método Hipotético | 31 |
| 2.4.1.2. Método Deductivo | 31 |
| 2.4.1.3. Método Experimental..... | 31 |
| 2.4.2. Técnicas | 32 |
| 2.4.2.1. Técnica de Observación | 32 |
| 2.4.2.2. Técnica de fichaje | 32 |
| 2.5 Diseño Experimental..... | 33 |
| 2.5.1 Diseño Completamente al Azar..... | 33 |
| 2.5.1. Tratamientos..... | 33 |
| 2.5.2. Unidades Experimentales..... | 34 |
| 2.6. Manejo del Ensayo | 34 |
| 2.6.1. Selección y distribución de los animales | 34 |
| 2.6.2. Toma de datos e identificación a cada grupo | 34 |
| 2.6.3. Toma de muestras sanguíneas Pre – Experimentación..... | 35 |
| 2.6.4. Aplicación de la vacuna anti – GnRH | 35 |
| 2.6.5. Toma de muestras sanguíneas Post – Experimentación | 35 |
| 2.6.6. Extracción de los testículos (Orquiectomia) | 36 |
| 2.6.7. Proceso Histológico..... | 36 |
| 2.6.7.1. Obtención del Tejido..... | 36 |

| | |
|--|----|
| 2.6.7.2. Fijación..... | 36 |
| 2.6.7.3. Corte y extracción de la muestra a procesarse | 37 |
| 2.6.7.4. Deshidratación e inclusión en parafina | 37 |
| 2.6.7.5. Inclusión en parafina líquida y formación del bloque | 38 |
| 2.6.7.6. Corte mediante micrótopo para parafina..... | 38 |
| 2.6.7.7. Recolección de la muestra en el portaobjetos | 38 |
| 2.6.7.8. Tinción | 39 |
| 2.6.7.9. Observación..... | 40 |
| 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS..... | 41 |
| 3.1 Niveles de Concentración Hormonal Pre– Experimentación | 41 |
| 3.1.1 Concentración Pre-Experimentación de Hormona LH..... | 41 |
| 3.1.2 Concentración Pre-Experimentación de Hormona FSH..... | 43 |
| 3.1.3 Concentración Pre-Experimentación de Hormona Testosterona | 44 |
| 3.1.4. Concentración Pre-Experimentación de Hormona Cortisol | 46 |
| 3.2. Niveles de Concentración Hormonal Post– Experimentación..... | 48 |
| 3.2.1 Concentración Post-Experimentación de Hormona LH | 48 |
| 3.2.2. Concentración Post-Experimentación de Hormona FSH | 50 |
| 3.2.3. Concentración Post-Experimentación de Hormona Testosterona..... | 51 |
| 3.2.4. Concentración Post-Experimentación de Hormona Cortisol..... | 53 |
| 3.3. Morfometría Testicular..... | 55 |
| 3.3.1. Testículo Izquierdo..... | 55 |
| 3.3.1.1. Medición Longitudinal Testículo Izquierdo..... | 55 |
| 3.3.1.2. Medición Transversal Testículo Izquierdo..... | 57 |
| 3.3.2. Testículo Derecho..... | 59 |
| 3.3.2.1. Medición Longitudinal Testículo Derecho | 59 |
| 3.3.2.2 Medición Transversal Testículo Derecho | 61 |
| 3.4. Diámetro de Túbulos Seminíferos | 63 |
| 3.4.1. Diámetro Mayor de los Túbulos Seminíferos | 63 |
| 3.4.2. Diámetro Menor de los Túbulos Seminíferos | 65 |
| 3.5. Estudio Histológico | 67 |
| 3.5.1. Inmunoesterilizados..... | 67 |
| 3.5.2. Esterilizados Quirúrgicamente y Testigos | 68 |
| CONCLUSIONES..... | 71 |
| RECOMENDACIONES | 72 |
| BIBLIOGRAFÍA | 73 |
| ANEXOS..... | 77 |

Índice de Imágenes

| | |
|--|----|
| Imagen 1 Placa Histológica de Testículo | 10 |
| Imagen 2 Túbulos Seminíferos..... | 11 |
| Imagen 3 epitelio Germinal..... | 12 |
| Imagen 4 Capa Limitante o Túnica Propia..... | 13 |
| Imagen 5 Células de Sertoli..... | 14 |
| Imagen 6 Células de Leydig..... | 15 |
| Imagen 7 Placa Histológica Inmunoesterilizados (10x)..... | 69 |
| Imagen 8 Placa Histológica Inmunoesterilizados (40x)..... | 69 |
| Imagen 9 Placa Histológica Esterilizados Quirúrgicamente (10x)..... | 70 |
| Imagen 10 Placa Histológica Esterilizados Quirúrgicamente (40x)..... | 70 |
| Imagen 11 Placa Histológica Testigos (10x)..... | 71 |
| Imagen 12 Placa Histológica Testigos (40x)..... | 71 |

Índice de Cuadros

| | |
|---|----|
| Cuadro 1 Clasificación Taxonómica..... | 1 |
| Cuadro 2 Esquema de Adeva | 34 |
| Cuadro 3 Resumen de Tratamientos..... | 35 |
| Cuadro 4 Proceso de Inclusión de Parafina a Nivel Celular | 39 |
| Cuadro 5 Proceso de Desparafinado, Hidratación y Tinción | 41 |
| Cuadro 6 Proceso de Deshidratación y Aclaración Final | 42 |

Índice de Gráficos

| | |
|---|----|
| Gráfico 1 Promedios de LH mUI/m | 44 |
| Gráfico 2 Promedios de FSH mUI/ml | 45 |
| Gráfico 3 Promedios de Testosterona ng/ml | 47 |
| Gráfico 4 Promedios de Cortisol ng/ml | 48 |
| Gráfico 5 Promedios de LH mUI/ml | 50 |
| Gráfico 6 Promedios de FSH mUI/ml | 52 |
| Gráfico 7 Promedios de Testosterona ng/ml | 54 |

| | |
|--|----|
| Gráfico 8 Promedios de Cortisol ng/ml | 55 |
| Gráfico 9 Promedios de Morfometría Longitudinal (cm) de Testículo Izquierdo | 57 |
| Gráfico 10 Promedios de Morfometría Transversal (cm) de Testículo Izquierdo | 59 |
| Gráfico 11 Promedios de Morfometría Longitudinal (cm) de Testículo Derecho. | 61 |
| Gráfico 12 Promedios de Morfometría Transversal (cm) de Testículo Derecho... | 63 |
| Gráfico 13 Promedios de Diámetro Mayor (micrómetros)..... | 65 |
| Gráfico 14 Promedios de Diámetro Menor (micrómetros)..... | 67 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1 LH mUI/ml | 43 |
| Tabla 2 Adeva para LH mUI/ml..... | 44 |
| Tabla 3 FSH mUI/ml | 45 |
| Tabla 4 Adeva para FSH mUI/ml..... | 46 |
| Tabla 5 Testosterona ng/ml | 46 |
| Tabla 6 Adeva para Testosterona ng/ml | 47 |
| Tabla 7 Cortisol ng/ml | 48 |
| Tabla 8 Adeva para Cortisol ng/ml..... | 49 |
| Tabla 9 Prueba de Duncan al 5% para Cortisol ng/ml..... | 49 |
| Tabla 10 LH mUI/ml | 50 |
| Tabla 11 Adeva para LH mUI/ml..... | 51 |
| Tabla 12 Prueba Duncan al 5% para LH mUI/ml | 51 |
| Tabla 13 FSH mUI/ml..... | 52 |
| Tabla 14 Adeva para FSH mUI/ml..... | 53 |
| Tabla 15 Testosterona ng/ml | 53 |
| Tabla 16 Adeva para Testosterona ng/ml..... | 54 |
| Tabla 17 Prueba al 5% para Testosterona ng/ml | 54 |
| Tabla 18 Cortisol ng/ml | 55 |
| Tabla 19 Adeva para Cortisol ng/ml..... | 56 |
| Tabla 20 Prueba Duncan al 5% para Cortisol ng/ml | 56 |
| Tabla 21 Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Izquierdo | 57 |
| Tabla 22 Adeva para Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Izquierdo.... | 58 |
| Tabla 23 Prueba Duncan al 5% para Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Izquierdo | 58 |

| | |
|--|----|
| Tabla 24 Morfometría Transversal (cm) del Testículo Izquierdo | 59 |
| Tabla 25 Adeva para Morfometría Transversal (cm) del Testículo Izquierdo..... | 60 |
| Tabla 26 Prueba Duncan al 5% para Morfometría Transversal (cm) del Testículo Izquierdo | 60 |
| Tabla 27 Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Derecho | 61 |
| Tabla 28 Adeva para Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Derecho..... | 62 |
| Tabla 29 Prueba Duncan al 5% para Morfometría Longitudinal (cm) del Testículo Derecho | 62 |
| Tabla 30 Morfometría Transversal (cm) del Testículo Derecho | 63 |
| Tabla 31 Adeva para Morfometría Transversal (cm) del Testículo Derecho | 64 |
| Tabla 32 Prueba Duncan al 5% para Morfometría Transversal (cm) del Testículo derecho | 64 |
| Tabla 33 Diámetro Mayor (micrómetros)..... | 65 |
| Tabla 34 Adeva para Diámetro Mayor (micrómetros) | 66 |
| Tabla 35 Prueba Duncan al 5% para Diámetro Mayor (micrómetros)..... | 66 |
| Tabla 36 Diámetro Menor (micrómetros)..... | 67 |
| Tabla 37 Adeva para Diámetro Menor (micrómetros) | 68 |
| Tabla 38 Prueba Duncan al 5% para Diámetro Menor (micrómetros)..... | 68 |

Índice de Fotografías

| | |
|---|----|
| Fotografía 1: Identificación de los tratamientos..... | 78 |
| Fotografía 2: Extracción muestra sanguínea (Punción Cardiaca) | 78 |
| Fotografía 3: Rasurado de la zona de aplicación de la vacuna..... | 78 |
| Fotografía 4: Aplicación de la vacuna | 79 |
| Fotografía 5: Materiales de desinfección, jeringas, tubos de recolección de muestras..... | 79 |
| Fotografía 6: Visita del tribunal de tesis..... | 79 |
| Fotografía 7: Proceso de castración | 80 |
| Fotografía 8: Medición longitudinal de testículo | 80 |
| Fotografía 9: Medición Transversal de testículo | 80 |
| Fotografía 10: Muestras de tejido en los cassetts de histopatología | 81 |
| Fotografía 11: Histoprocador de tejidos automático | 81 |

| | |
|--|----|
| Fotografía 12: Colocación de las muestras de tejido en el Histoprocador..... | 81 |
| Fotografía 13: Programa para el proceso de inclusión de parafina a nivel celular | 82 |
| Fotografía 14: Inclusión en parafina líquida | 82 |
| Fotografía 15: Bloques de parafina conteniendo las muestras de tejido..... | 82 |
| Fotografía 16: Maquinas para el proceso de inclusión en parafina y formación de los bloques | 83 |
| Fotografía 17: Micrótopo de corte para bloques de parafina | 83 |
| Fotografía 18: Corte y obtención de muestra de tejido..... | 83 |
| Fotografía 19: Recolección de la muestra en el portaobjetos..... | 84 |
| Fotografía 20: Maquina para el proceso de desparafinado, hidratación y tinción. | 84 |
| Fotografía 21: Lavado de las placas | 85 |
| Fotografía 22: Reactivos para el proceso de deshidratación y aclaración final | 85 |
| Fotografía 23: Pegado de cubreobjetos | 85 |

CAPÍTULO I

En el presente capítulo se recopila toda la información de libros, páginas web referente a la anatomía, fisiología e histología de los conejos así como también la información de la vacuna anti GnRH.

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. Generalidades del Conejo

El conejo tiene aproximadamente el tamaño de un gato doméstico adulto, entre unos 40 y 45 centímetros de largo desde la punta del hocico hasta la cola. La cabeza es redonda, pero la cara ligeramente alargada, el hocico o nariz es pequeña y está inscrito en una pequeña zona de la piel, desnuda y sin pelo, húmeda, llamada “rhinarium”. El conejo es un buen animal doméstico de selección, es limpio, dócil e inteligente; el conejo despierta mucha admiración en todo el mundo, por numerosas razones: es tenaz y puede sobrevivir en medio de casi toda clase de situaciones. A causa de su elevada tasa de natalidad, el conejo ha sido capaz de mantener el número de ejemplares de su raza a un nivel constante, a pesar de la intervención del hombre (ZUNIÑO, 2003)

1.2. Anatomía del Aparato Reproductor del Macho

El conejo macho tiene como elementos gonadales a los testículos, que son los órganos encargados de la producción de espermatozoides, segregando al mismo tiempo las hormonas masculinas o andrógenos. Para que los espermatozoides tengan capacidad fecundante, es necesario su maduración a lo largo de diversos conductos, tales como el epidídimo, conductos deferentes, ampolla deferente, colector seminal, conducto eyaculador y uretra; contando además con pequeños órganos receptores y secretores de líquido seminal, como la vesícula seminal,

glándula vesicular, glándulas paraprostáticas y glándula bulbo-uretral. (FERNÁNDEZ, 2014)

1.2.1. Testículos

Son elementos de forma ovoide, que se hallan envueltos en el escroto, disponiendo de fibras musculares que permiten su retracción hacia la cavidad abdominal a través de los anillos inguinales. El testículo está compuesto esencialmente de túbulos seminíferos que se unen en un conducto común que recoge las secreciones de todos ellos. La base de estos tubos está formada por un epitelio basal cuya actividad de lugar a los gametos masculinos o espermatozoides. (SISSON, y otros, 2001)

1.2.1.1. Cápsula Testicular

Es testículo está suspendido dentro del escroto y rodeado inmediatamente por la cápsula testicular, formada por tres capas.

- Capa externa o túnica vaginal
- Capa media o túnica albugínea
- Capa interna o túnica vascular

La cápsula testicular no es, como antes se pensó, una cubierta inerte del testículo, sino que actúa como una membrana dinámica capaz de efectuar contracciones periódicas. Es probable que estas contracciones sirvan para conservar una presión adecuada dentro del testículo, regular el movimiento del líquido fuera de los capilares y de regreso a ellos, y dar masaje al sistema de conductos y por tanto ayudar al desplazamiento de los espermatozoides hacia afuera. (FAWCETT, 2001)

1.2.1.2. Estructura de los testículos

Los testículos están rodeados por una firme cápsula de tejido conectivo, la túnica albugínea, que tiene 1-2 mm de espesor y está compuesta de fibras de colágeno. En la túnica albugínea discurren en forma específica según el tipo de animal los grandes vasos del testículo (arteria y vena testiculares). Por fuera del testículo se

encuentra la hoja visceral del proceso vaginal del peritoneo como una cubierta serosa de una sola capa. La túnica albugínea mantiene bajo presión el parénquima testicular. (KÖNIG, y otros, 2005)

El parénquima testicular incluye:

- Túbulos seminíferos contorneados
- Túbulos seminíferos rectos
- Red del testículo

Cada lobulillo testicular contiene entre dos y cinco canales testiculares contorneados que tienen a su cargo la formación de las células germinales masculinas. La pared de los canaliculos 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. (DYCE, y otros, 2012)

La función de las células de sostén consiste en producir diferentes proteínas que dirigen la espermatogénesis, nutrir las células en diversos estadios de diferenciación, fagocitar gotitas citoplasmáticas y también liberar espermátides maduras a la luz tubular. 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. (SISSON, y otros, 2001)

La red del testículo se encuentra en el mediastino del testículo. En el intersticio entre los túbulos seminíferos se encuentran las 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. (SHIVELY, 2003)

1.2.2. Epidídimo

El epidídimo de conejo es un largo conducto contorneado que presenta tres regiones: cabeza, cuerpo y cola, divididas por proyecciones de su albugínea. La forma de los conductos es de regular e isodiamétrica en la cabeza, a irregular y anisodiamétrica en la cola. (RAYMOND, y otros, 2012)

El epidídimo mamífero cumple funciones de transporte, concentración, maduración y almacenamiento espermático, además de un rol protector, siendo lugar de síntesis y secreción de enzimas antioxidantes. En la cabeza del epidídimo, que está firmemente unida con el testículo, ingresan los conductillos eferentes del testículo para unirse en el canal o conducto del epidídimo. El conducto, densamente contorneado, forma en primer lugar el cuerpo del epidídimo que, fijado por medio del mesoepidídimo está situado en posición caudal o dorsal con respecto al contorno longitudinal medial del testículo. (DYCE, y otros, 2012)

En el conducto del epidídimo terminan de madurar los espermatozoides que quedan almacenados en su porción terminal, la cola del epidídimo, hasta la eyaculación. Por ese motivo, en el conducto del epidídimo se reabsorbe líquido testicular, se fagocitan fragmentos celulares y se secretan sustancias nutritivas para los espermatozoides. (PARRA, 2002)

La cola del epidídimo está fijada por ligamentos por una parte al testículo mediante el ligamento propio del testículo y por otra parte a la base del proceso vaginal mediante el ligamento de la cola del epidídimo. (KÖNIG, y otros, 2005)

1.2.3. Glándulas accesorias

Glándulas accesorias del aparato genital del conejo macho.

1. Glándula vesicular
2. Propróstata
3. Próstata

4. Parapróstata

5. Glándula bulbouretral

6. Conducto deferente

7. Uretra

1.2.3.1. Glándula vesicular

En el conejo, la glándula vesicular es globosa cranealmente y aplanada caudalmente, no es un conducto tortuoso y enrollado sobre sí mismo y no emite divertículos irregulares, como ocurre en el Hombre. La glándula vesicular presenta dos partes anatómicamente distintas: craneal y caudal. La parte craneal es globosa presenta seis caras y la parte caudal, aplanada por la propróstata y por las ampollas deferenciales, presenta sólo dos caras y dos bordes laterales y secretan un líquido rico en azúcares como fructuosa y ácido cítrico. (SISSON, y otros, 2001)

1.2.3.2. Propróstata

Glándula de color amarillo claro, cubierta por una cápsula de tejido fibroso y fibras musculares lisas que, en su parte mediana, penetraban y la dividían externamente en dos lóbulos. Localizada caudal a la glándula vesicular y craneal a la próstata, estaba separada de ellas por un delgado septo de tejido conectivo y fibras musculares lisas. Lateralmente se relacionaba con la parapróstata y ventralmente con la uretra (parte mediana) y los conductos deferentes (parte lateral). Dorsalmente, se relacionaba con el recto. De la cara ventral emergían dos conductos que desembocaban en la pared dorsal de la uretra. La parte más caudal de la glándula y los conductos transcurrían anteriores a la próstata. (VASQUEZ, y otros, 2002)

1.2.3.3. Próstata

De color blanco amarillento, se localizaba entre la propróstata y la glándula bulbouretral, cubierta por una delgada cápsula de tejido fibroso y células

musculares lisas. Presentaba dos conductos excretores que emergían por la cara ventral de cada lóbulo. Su función consiste en producir líquidos alcalinos con el fin de neutralizar la condición ácida de la uretra y de la vagina. (ASPINALL, y otros, 2007)

1.2.3.4. Parapróstata

Dos pequeñas glándulas que se relacionaban con la próstata, propróstata y ampolla del conducto deferente. De superficie irregular abollonada, con forma de mazo. (VASQUEZ, y otros, 2002)

1.2.3.5. Glándula Bulbouretral

La glándula bulbouretral del conejo es única, que está rodeada por el músculo bulboglandular y una cápsula fibrosa. De forma cuboidea, alargada en sentido anteroposterior, con ductos cortos que se abren en la pared posterior de la uretra. La glándula se encuentra relacionada con la próstata y parapróstata y está muy vascularizada. (DEL SOL, y otros, 2001)

La función que desempeña la glándula bulbouretral sigue siendo incierta, aunque se las relaciona, principalmente, con la secreción de una sustancia lubricante mucosa y clara, de reacción alcalina, cuya función es neutralizar los restos de acidez de la uretra y, probablemente, de la secreción vaginal ácida de la hembra, aumentado con ello el potencial de supervivencia de los espermatozoides en el aparato genital femenino. (ASPINALL, y otros, 2007)

1.2.3.6. Conducto deferente

El conducto deferente de conejo, cumple un rol preponderante en el transporte de los espermatozoides hacia la uretra. En el conducto deferente del hombre y de algunos mamíferos se pueden distinguir cuatro segmentos anatómicos: epididimario, funicular, pélvico y ampular. El segmento epididimario del conducto deferente es una continuación de la cola del epidídimo. La pared está compuesta por diferentes estratos de musculatura lisa, rodeada de la adventicia. (SCHENCKE, 2003)

El segmento funicular se incorpora al funículo espermático, encerrado en un pequeño pliegue seroso. Histológicamente se observa una adventicia con abundantes fibras colágenas, vasos y nervios. El segmento pélvico del conducto deferente es el más largo. Dentro de la pélvis cruza al uréter y luego se continúa con la ámpula. La ámpula es el segmento más dilatado del conducto deferente. De forma de huso, se encuentra unido por su parte medial con la ámpula contralateral. Presenta solo dos estratos musculares. Uno circular interno y otro externo irregularmente dispuesto. (DYCE, y otros, 2012)

1.2.3.7. Uretra

Esta estructura hace parte del aparato urinario y a su vez sirve de conducto para el plasma seminal, por esta razón incluimos la uretra dentro del tracto reproductivo masculino. La uretra es un tubo o conducto que va desde la vejiga hasta el exterior, ésta va por el interior del pene. Su función es común para el aparato urinario y el aparato reproductivo, al permitir la salida de la orina y del semen al exterior. (KÖNIG, y otros, 2005)

1.3. Fisiología del Aparato Reprodutor del Macho

1.3.1. Regulación de la reproducción en el macho

Los principios de la reproducción en el macho muestran un patrón similar a los de la hembra.

Las hormonas responsables del desarrollo y el mantenimiento del fenotipo masculino también son gonadotropinas: la hormona luteinizante (LH, que en el macho recibía el nombre de hormona estimulante de las células intersticiales o (ICSH) y la hormona folículoestimulante (FSH), producida por la hipófisis; las hormonas esteroideas androgénicas, incluida la testosterona (producida por los testículos) y la inhibina. (PTASZYNSKA, 2007)

1.3.2. Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas

La liberación de hormonas en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas es regulada por mecanismos de retroalimentación negativa y positiva sobre el hipotálamo y la adenohipófisis. En este sentido, la GnRH estimula a los gonadotropos de la adenohipófisis para liberar LH o FSH. A su vez, la LH estimula a las gónadas para secretar esteroides gonadales, como testosterona o estrógenos, mientras que la FSH estimula a las gónadas para liberar inhibina. Tanto los estrógenos como la testosterona ejercen retroalimentación negativa sobre los gonadotropos e inhiben la liberación de gonadotropinas. (REECE, 2009)

La GnRH del hipotálamo estimula la secreción de FSH y LH. La FSH actúa directamente sobre los túbulos seminíferos del testículo (células germinales y células de Sertoli), estimulando la espermatogénesis. Las células de Sertoli producen inhibina, que tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH por parte de la hipófisis. La LH estimula la producción de testosterona por parte de las células de Leydig. (CUNNINGHAM, 2009)

Hormona Foliculoestimulante promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graaf. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por si sola, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno. En el macho, la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos de los testículos y es responsable de la espermatogénesis hasta el estado de espermatocito secundario. (HAFEZ, y otros, 2002)

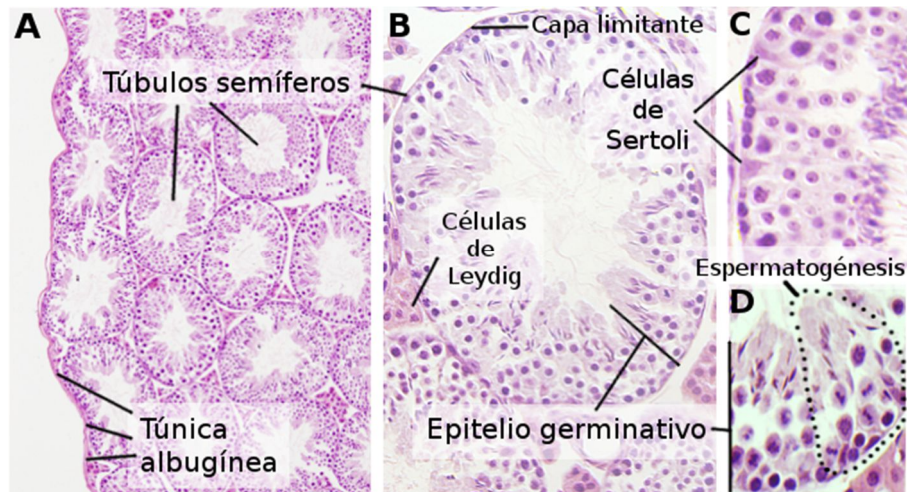
Hormona Luteinizante es una glucoproteína estimula las células intersticiales del ovario y de los testículos. En el macho induce a las células de Leydig, que rodean a los túbulos seminíferos de los testículos a secretar andrógenos (testosterona). (SALTIEL, 2001)

La testosterona (que actúa sobre las células de Sertoli) también es necesaria para la espermatogénesis. Esta y otros andrógenos son responsables de la diferenciación y la maduración de los órganos reproductores masculinos, del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios masculinos y del

comportamiento normal del macho en la reproducción. La testosterona ejerce una retroalimentación negativa sobre la secreción de LH suprimiendo la secreción pulsátil de GnRH por parte del hipotálamo. (CUNNINGHAM, 2009)

1.4. Histología del testículo

IMAGEN N° 1: Placa histológica de Testículo



Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

1.4.1. Cápsula testicular

El testículo está suspendido dentro del escroto y rodeado inmediatamente por la cápsula testicular, formada por tres capas.

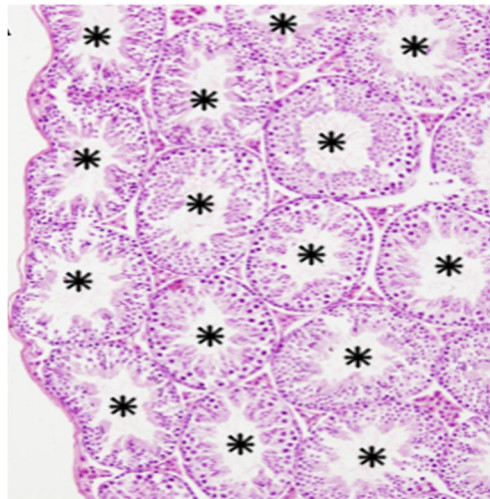
- Capa externa o túnica vaginal.
- Capa media o túnica albugínea.
- Capa interna o túnica vascular.

La túnica vaginal es una capa simple de células mesoteliales adelgazadas que con frecuencia se destruyen durante la preparación histológica. Esta capa visceral es parte de un saco seroso cerrado derivado del peritoneo que rodea las caras anterior y lateral del testículo. En la cara posterior este mesotelio se refleja sobre el saco escrotal, al cual reviste para formar la capa parietal de la túnica vaginal. La túnica albugínea es una capa gruesa de tejido conectivo fibroelástico denso que contiene algunas células musculares lisas (FAWCETT, 2001).

1.4.2. Túbulos seminíferos

Los túbulos seminíferos son el lugar del testículo donde se lleva a cabo la espermatogénesis o producción de espermatozoides. Cada túbulo seminífero puede medir en humanos entre 30 y 80 centímetros de longitud y tienen un diámetro de 150 a 250 μm . El epitelio germinativo o seminífero forma la pared del túbulo. Es estratificado y está formado por células germinales en los distintos estados de la espermatogénesis (meiosis más espermiogénesis) y por células somáticas denominadas células de Sertoli. Rodeando al epitelio germinativo hay una capa de tejido conectivo denominada capa limitante o túnica propia. (PANIAGUA, 2007)

IMAGEN N° 2: Túbulos Seminíferos



Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

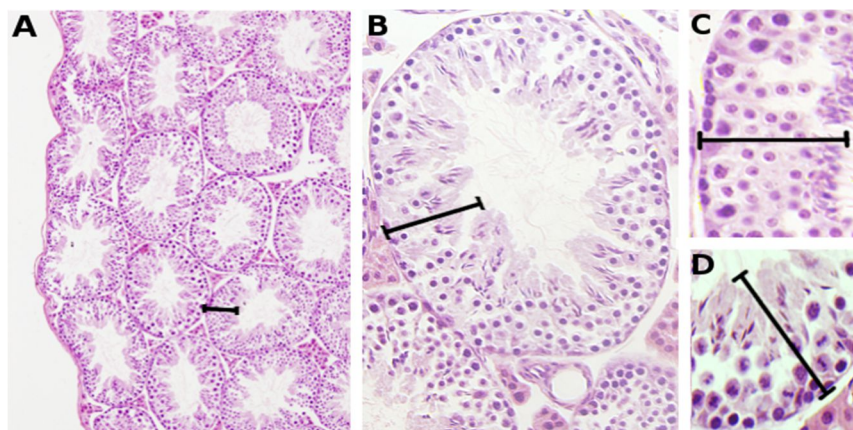
1.4.3. Epitelio Germinativo

Las células germinales se denominan de diferente forma según el estado de la espermatogénesis en el que se encuentren. Las espermatogonias son las células troncales que se dividen para producir más células troncales y a otras células que comenzarán la espermatogénesis para formar gametos. Su posición es periférica en el epitelio, estando en contacto con la lámina basal. Cuando una célula descendiente de una espermatogonia se despegue de la lámina basal comienza en primer lugar un proceso de división mitótica que da lugar a una cohorte de

espermatogonias denominadas tipo A claras o tipo B. Estas últimas son las que sufren la meiosis. En primer lugar se transforman en espermatocitos primarios, los cuales sufrirán recombinación cromosómica en la profase I de la meiosis, tras lo cual llevará a cabo la primera división meiótica. Como resultado se producen los espermatocitos secundarios que sufren la segunda división meiótica. Como consecuencia de ambas divisiones se obtienen células denominadas espermátidas, las cuales son haploides. Cada espermatocito primario da lugar a cuatro espermátidas. (BACHA, y otros, 2001)

Las espermátidas llevarán a cabo una gran transformación celular, denominada espermiogénesis, para convertirse en espermatozoides. Esta etapa conlleva sobre todo la creación de un flagelo y un acrosoma (compartimento con enzimas líticas), pérdida de una gran cantidad de material celular y compactación del ADN. Todos estos tipos celulares se pueden observar a lo largo del epitelio germinativo, aunque en tinciones generales no es fácil distinguir algunos de ellos. Ayuda a identificarlos su posición puesto que las espermatogonias se sitúan en la periferia y los espermatozoides en el interior del tubo. Entre ambos están todos los demás tipos celulares. (DELLMANN, 2004)

IMAGEN N° 3: Epitelio Germinal



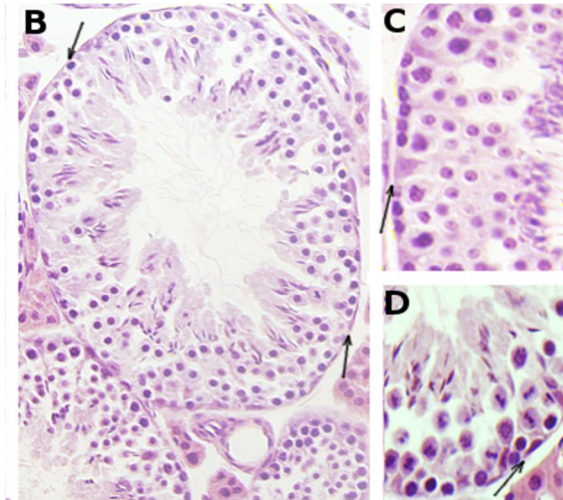
Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

1.4.3. Capa Limitante o Túnica propia

Formada por tejido conectivo dispuesto en capas delgadas donde no aparecen fibroblastos típicos. Sin embargo, aparecen otras células que poseen capacidad

contráctil denominadas células mioideas. Las contracciones periódicas de estas células provocan contracciones peristálticas que contribuyen a mover el líquido testicular y los espermatozoides a lo largo del túbulo seminífero. (GAZQUEZ, y otros, 2004)

IMAGEN N° 4: Capa limitante o túnica Propia

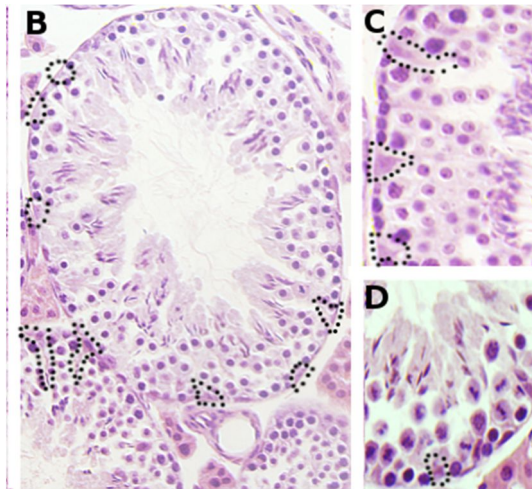


Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

1.4.4. Células de Sertoli

Son células grandes, con forma ovoide o triangular, con el núcleo claro, a veces indentado, y es frecuente observar un nucléolo. Aunque su núcleo se encuentre cerca de la lámina basal del conducto, emiten prolongaciones hacia el interior del conducto y también lateralmente, las cuales ocupan los espacios entre las células germinales. Actúan como células de sostén de las células germinales. Las prolongaciones de las células de Sertoli vecinas están conectadas entre sí mediante complejos de unión, creando un armazón que se extiende a todo lo largo del epitelio germinativo. Además de su función estructural las células de Sertoli actúan como secretoras produciendo el líquido testicular que llena el túbulo seminífero y como células endocrinas liberadoras de hormonas como la inhibina, la cual actúa sobre la hipófisis. (FAWCETT, 2001)

IMAGEN N° 5: Células de Sertoli

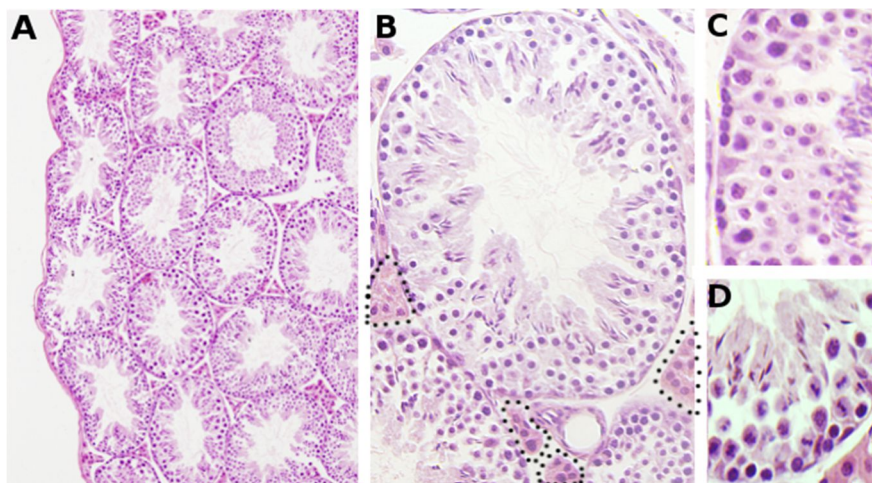


Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

1.4.5. Células de Leydig

Se localizan entre los túbulos seminíferos, son redondeadas y grandes en tamaño, eosinófilas y presentan inclusiones de lípidos. Estas células secretan testosterona desde el inicio del desarrollo del feto hasta la edad adulta. La función de esta hormona durante el desarrollo fetal es permitir que las crestas gonadales se conviertan en testículos, durante la pubertad provoca la producción de espermatozoides y el desarrollo de los caracteres morfológicos masculinos, mientras que en la etapa adulta es necesaria para mantener las características sexuales conseguidas durante la pubertad. (PANIAGUA, 2007)

IMAGEN N° 6: Células de Leydig



Fuente: Atlas de Histología vegetal y animal.

1.5. Técnicas histológicas

1.5.1. Introducción

Denominamos proceso histológico a una serie de métodos y técnicas utilizados para poder estudiar las características morfológicas y moleculares de los tejidos. Hay diversos caminos para estudiar los tejidos, es decir, series de técnicas que se utilizarán dependiendo de qué característica deseemos observar. En el siguiente esquema se muestran los métodos y técnicas comúnmente empleados para el procesamiento de los tejidos para su observación con los microscopios óptico o electrónico. (VIGO, 2014)

1.5.2. Fijación

Todos los tejidos, bien cuando se extraen de un organismo o bien cuando el organismo en el que están muere, sufren dos tipos de procesos degradativos: autólisis por acción de enzimas intracelulares, es decir, autodigestión, y putrefacción por acción bacteriana. Además, el procesamiento histológico posterior del tejido para poner de manifiesto y observar determinadas estructuras supone una metodología que puede degradar las estructuras tisulares. Fijar un tejido es preservar sus características morfológicas y moleculares lo más parecidas posibles a las que poseía en su estado vivo. Es como hacer una fotografía del tejido vivo y poder observarla, tras cierto tratamiento, con el microscopio. Así, los fijadores deben evitar la autólisis, proteger frente a ataques bacterianos, insolubilizar elementos solubles que se quieren estudiar, evitar distorsiones y retracciones tisulares, penetrar y preparar el tejido para poder llevar a cabo tinciones específicas posteriores, si es necesario, etcétera. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

No existe un fijador universal, ni un método de fijación único. Incluso podemos usar varios fijadores secuencialmente según nuestras necesidades. La elección depende de las características fijadoras que necesitemos. Por ejemplo, si queremos estudiar actividades enzimáticas debemos usar un fijador que no nos altere el centro activo de las enzimas en las que estamos interesados, y quizá para ello

tengamos que sacrificar en cierta medida la morfología tisular. Si queremos estudiar la ultraestructura celular debemos usar fijadores que la preserven y que protejan a las membranas celulares durante el procesamiento de inclusión en resinas, y quizá esto altere su apetencia por los colorantes generales. Si queremos teñir un determinado componente celular difícilmente teñible quizá debemos usar un fijador que lo modifique para que sea reconocido más fácilmente por los colorantes. (WIKILIBROS, 2015)

En cualquier caso hay características de los fijadores que tenemos que tener en cuenta antes de su uso:

a) Velocidad de penetración. El proceso de fijación ha de ser rápido y la velocidad de difusión de la sustancia fijadora en los tejidos es un factor determinante. Este parámetro condiciona el tamaño de la pieza que queramos fijar, más pequeña cuanto menor sea la velocidad de difusión del fijador empleado, y también determina el tiempo de fijación, mayor cuanto menor tiempo de difusión. (HISTOTECHNOOGY, 2010)

b) Velocidad de fijación. Esta característica no depende de la velocidad de difusión sino de las propiedades químicas del fijador y condiciona el tiempo que debe permanecer el tejido en contacto con el fijador. (REDONDO, 2007)

c) Endurecimiento. Los fijadores generalmente endurecen los tejidos, lo cual depende del tipo de fijador y del tiempo que el tejido haya estado expuesto a él. (WIKILIBROS, 2015)

d) Ósmosis y pH. Es indispensable evitar cambios de volumen en las células producidos por una osmolaridad del fijador diferente a la del tejido. Por tanto, hay que equilibrar la osmolaridad de las soluciones fijadoras y la de los tejidos a fijar. No es necesario añadir sustancias complejas. Por ejemplo, para los tejidos de animales terrestres basta con añadir 0.9 % de cloruro sódico. Son sales que no afectan a la capacidad del fijador. Normalmente se suelen usar soluciones tamponadoras a un pH semejante al del tejido e isoosmóticas con dicho tejido. (GAZQUEZ, y otros, 2004)

e) Efecto mordiente. Algunas estructuras tisulares son difíciles de teñir puesto que tienen poca afinidad por los colorantes. Esta afinidad puede ser incrementada con un tratamiento previo. Algunos fijadores, además de fijar, modifican químicamente a ciertas estructuras celulares para que posteriormente puedan unirse a ellas los colorantes. Este tipo de modificación química se le denomina efecto mordiente. (HISTOTECHNOLOGY, 2010)

f) Artefactos. Los procesos de fijación pueden acarrear alteraciones tisulares como variaciones morfológicas, cristalización de compuestos, desplazamiento de sustancias, etcétera. Estos cambios pueden producirse por las características del fijador o por un mal uso de éste. En cualquier caso deben tenerse en cuenta para no describir como características tisulares lo que es un artefacto introducido durante la fijación. (FAWCETT, 2001)

1.5.2.1. Métodos de fijación

Existen diferentes formas de fijar los tejidos dependiendo del tipo de fijador, de la estructura a fijar y de lo que queramos observar. Los métodos de fijación se pueden clasificar en dos tipos: físicos y químicos. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

Los fijadores físicos se basan o bien en una congelación muy rápida del tejido o bien en la aplicación de calor elevado. Se utilizan cuando los fijadores químicos alteran las estructuras que queremos observar, cuando necesitamos una fijación muy rápida, o cuando el tipo de tejido y la técnica que usaremos lo requiera. La congelación rápida es un buen método de preservación de las características moleculares y es conveniente que sea rápida puesto que así se impide la formación de grandes cristales de hielo que nos destruirían la estructura del tejido. (BACHA, y otros, 2001)

Existen variantes de esta técnica como son la criodesecación o liofilización y la criosustitución. La criodesecación parte de tejido previamente congelado al que posteriormente se le sublima el hielo, es decir, el agua pasa de estado sólido a gaseoso sin pasar por estado líquido. Al eliminar el agua se impide que se den reacciones químicas, por lo que, además de la fijación, este método preserva el

tejido en el tiempo. La criosustitución también parte de tejido congelado pero en este caso se produce una sustitución lenta del hielo por una solución fijadora. Con ello se posibilita una fijación química sobre un material que no ha sufrido deterioro puesto que está congelado. Los métodos de fijación por calor no son frecuentemente usados, excepto para el estudio microorganismos. (FAWCETT, 2001)

Los métodos químicos utilizan soluciones acuosas compuestas por moléculas fijadoras que establecen puentes entre las moléculas del tejido, manteniéndolas en sus lugares originales e impidiendo su degradación. Hay dos métodos básicos de fijación con fijadores líquidos: inmersión y perfusión. En cualquier caso el fijador debe llegar a todas las partes del tejido lo más rápidamente posible. (REDONDO, 2007)

a) Inmersión. En el método de inmersión las piezas de tejido se sumergen en la solución fijadora. Hay que tener en cuenta algunas precauciones.

1) Las piezas de tejido no deberían superar los 0.5 cm de espesor para que el fijador alcance el interior de la pieza antes de que ésta comience a deteriorarse. Esto depende de la velocidad de penetración del fijador y de las características del tejido. Por ejemplo, si tiene cavidades por donde penetre la solución fijadora el volumen podría ser mayor. El volumen recomendado de fijador es 20 veces superior al volumen de la pieza. La osmolaridad del tejido y de la solución fijadora debe estar equilibrada. El pH del fijador debe ser próximo al fisiológico. El tiempo de fijación depende de cada tipo de fijador. Una agitación suave durante la fijación ayuda a la penetración del fijador y disminuye el tiempo. (VIGO, 2014)

b) Perfusión. Por este procedimiento la solución fijadora se introduce a través del sistema circulatorio por el cual accede a todas las células del tejido gracias a la red de capilares. Mediante este método se puede fijar un animal completo introduciendo la solución fijadora a través del ventrículo izquierdo del corazón. El fijador llegará a todas las células irrigadas por la sangre bombeada por dicho ventrículo (circuito corporal). Si se quieren fijar los pulmones habría que introducir el fijador por el ventrículo derecho. También podemos fijar un único

órgano en el caso de que podamos introducir la solución fijadora en la arteria principal que irriga dicho órgano. La perfusión no siempre es posible en algunos casos como en muchas biopsias o en los tejidos vegetales. (WIKILIBROS, 2015)

El método de fijación por perfusión es mucho más efectivo que el de inmersión ya que la solución fijadora llega rápidamente a escasa distancia de todas las células de la estructura perfundida. Por tanto, la velocidad de penetración del fijador no es una condición limitante. (GAZQUEZ, y otros, 2004)

Antes de introducir el fijador en el sistema de vasos sanguíneos hay que eliminar previamente la sangre con una solución de lavado oxigenada, de otra manera su interacción con el fijador produce trombos que impedirían la fijación de determinadas zonas del animal o del órgano. Respecto a las precauciones mencionadas anteriormente en el método de inmersión debemos cuidar aquí también la osmolaridad, el pH y el tiempo de fijación. (REDONDO, 2007)

Este método de fijación por perfusión requiere conocer la presión a la que se va a introducir la solución fijadora en el animal o estructura, la cual debe ser similar a la que posee la presión sanguínea normal en estado vivo. La presión que ejercerá la solución fijadora se puede regular mediante bombas peristálticas (ver figura) o por gravedad, es decir, variando la altura a la cual se coloca la solución fijadora respecto a la del animal. Esto es importante porque una presión muy baja podría impedir que la solución fijadora alcanzara todas las partes de la estructura y un presión muy alta podría provocar roturas de los vasos sanguíneos y de la propia estructura tisular. (HISTOTECHNOOGY, 2010)

1.5.2.2. Fijadores

Los fijadores se pueden clasificar en dos grandes grupos según su acción sobre el tejido: los desnaturalizantes y los que establecen enlaces cruzados. Los primeros, al extraer agua de los tejidos producen desnaturalización de las proteínas produciendo coagulación proteica, mientras que los segundos establecen enlaces químicos entre moléculas del tejido. Los fijadores que tienen como base al alcohol

son desnaturalizantes, tales como el Bouin o el Carnoy, mientras que el formaldehído o el glutaraldehído establecen enlaces. (LACAVE, y otros, 2005)

a) Alcohol etílico. Fija por deshidratación y se usa entre el 70 y 90 %. Es un buen fijador para preservar proteínas, como enzimas, glucógeno, pigmentos y es útil para fijar las extensiones citológicas. Debido a que deshidrata, a la vez que fija, se puede usar también como un conservante de las muestras. Tiene algunos inconvenientes como producir endurecimiento y la retracción de los tejidos. Carece de efecto mordiente. (DELLMANN, 2004)

b) Ácido acético. Su proceso de fijación consiste en cambiar el estado coloidal de las proteínas. Se utiliza a una concentración que varía entre el 1 y el 5 %. Es el fijador ideal para ácidos nucleicos y nucleoproteínas. Como inconvenientes cabe destacar la destrucción de las mitocondrias y mala fijación de membranas y citoplasma. Se suele usar en combinación con otros fijadores. Ejemplos: BOUIN, FFA. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

c) Ácido pícrico. La fijación la produce porque las sales del tipo picrato coagulan las proteínas de los tejidos. Se suele usar del 2 al 15 % de una solución saturada de ácido pícrico. Preserva bien la estructura celular, no produce retracciones cuando el tiempo de fijación es óptimo, preserva bien glucógeno y lípidos. Es un buen fijador para tinciones generales puesto que tiene efecto mordiente y favorece la unión de los colorantes. Hay que eliminarlo completamente antes de proceder a la inclusión en ceras como la parafina puesto que dificulta la penetración de la parafina. Se suele usar combinado con otros fijadores. Ejemplos: BOUIN. (REDONDO, 2007)

d) Formaldehído. Actúa mediante la formación de puentes entre las moléculas tisulares. Se utiliza a concentraciones próximas al 4 %. Es un fijador ampliamente usado por la buena preservación del tejido, actúa como conservante, produce poca retracción tisular, es un buen fijador para lípidos, es compatible con la mayoría de las tinciones histológicas, incluidas las de inmunocitoquímica e hibridación de ácidos ribonucleicos. Normalmente se usa en solución tamponada e isotónica.

Actualmente se prepara a partir de paraformaldehído, sustancia sólida. Ejemplos: BOUIN, FFA, PLP. (LACAVE, y otros, 2005)

e) Glutaraldehído. Forma puentes entre las moléculas de los tejidos. Se usa a una proporción de entre el 0,5 y el 3 %. Tiene una alta capacidad para preservar la estructura celular, por lo que es el fijador de referencia para observación de ultraestructuras celulares con el microscopio electrónico. Pero hay que tener cuidado con su baja penetración tisular y puede producir retracciones. Se usa en soluciones tamponadas isotónicas. (REDONDO, 2007)

1.5.3. Inclusión

Es el método más común de endurecer el tejido y consiste en infiltrar la muestra con sustancias líquidas que tras un proceso de polimerización o enfriamiento se solidifican, sin afectar a las características del tejido. Con ello se consigue obtener cortes del orden de μm a nm , según el medio de inclusión, sin que el tejido se rompa o se deteriore. Además, son un buen método para preservar las muestras durante largos periodos de tiempo. Existen diferentes sustancias o medios de inclusión dependiendo del grosor del corte y de la técnica que necesitemos realizar. Cuando se quieren hacer secciones para su observación con el microscopio óptico los medios de inclusión más frecuentemente usados son la parafina o la celoidina, mientras que si vamos a realizar observaciones con el microscopio electrónico la inclusión se realiza con resinas. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

1.5.3.1 Inclusión en parafina

La parafina es una sustancia de aspecto ceroso que está formada por mezclas de hidrocarburos saturados. A temperatura ambiente es sólida y su punto de fusión puede variar entre $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ según la composición de la mezcla de hidrocarburos. Así, parafinas más duras a temperatura ambiente tienen un punto de fusión mayor, mientras que las más blandas uno menor. Es recomendable una dureza mayor para incluir muestras más duras. Las parafinas más usadas tienen un punto de fusión en torno a los $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Podemos también modificar las

características de las parafinas añadiendo sustancias para variar su dureza, viscosidad, fragilidad, etcétera. (BACHA, y otros, 2001)

La parafina no es miscible con agua, mientras que todos los tejidos están formados principalmente por agua. Además, la mayoría de los fijadores son soluciones acuosas. Esto implica que para que la parafina líquida pueda penetrar completamente en el tejido ha de sustituirse el agua por un solvente orgánico. Esto se consigue mediante la deshidratación del tejido en alcoholes, normalmente etanol, de gradación creciente hasta alcohol de 100°. Posteriormente se transfiere el tejido a un líquido que es miscible tanto con el alcohol de 100° como con la parafina, denominado sustancia intermediaria, como es el benceno, xileno, tolueno o el óxido de propileno, entre otros. Estas sustancias son normalmente aclarantes por lo que comprobando la translucidez de la pieza podemos cerciorarnos de la penetración de la sustancia intermediaria en el tejido. El tiempo de incubación de la pieza en algunos de estos líquidos intermediarios como el tolueno o xileno no debe ser excesivo puesto que estas sustancias endurecen la pieza y crean problemas al hacer las secciones. (LACAVE, y otros, 2005)

Por último se pasa el tejido a parafina previamente licuada en una estufa regulada a la temperatura apropiada para dicho tipo de parafina. Se dan tres pasos por parafina líquida para favorecer una completa sustitución del líquido intermediario por la parafina. El tiempo que dura dichos pasos depende de lo volátil que sea el líquido intermediario y lo grande que sea nuestra pieza. Será mayor cuanto menos volátil es el líquido intermediario o mayor sea la muestra de tejido. Hay que tener en cuenta que un tiempo excesivo en parafina puede endurecer el tejido. Tras el completo de la muestra se vierte parafina líquida en un molde, se introduce la muestra y se coloca según la orientación deseada de corte y se deja solidificar a temperatura ambiente. (REDONDO, 2007)

1.5.4. Corte

Los aparatos mecánicos para hacer secciones de un grosor de micrómetros se denominan micrótomos y existen diferentes tipos según el grosor que queramos conseguir en nuestras secciones, según el medio de inclusión en el que se

encuentre el tejido o según el proceso de endurecimiento de la muestra: por congelación o por inclusión. (VIGO, 2014)

Los micrótomos más usados son:

a) Micrótomos para parafina: Se utiliza principalmente para material incluido en parafina y se obtienen secciones de 5 a 20 μm de grosor. Estas secciones se observan con el microscopio óptico. (GEOFFREY, 2011)

b) Vibratomo: Corta material no incluido, aunque sí fijado o duro, en secciones de que puede ir desde 30 hasta centenares de μm de grosor. Estas secciones se observan con el microscopio óptico. (LEICA, 2012)

c) Micrótomos de congelación: Con él se consiguen secciones de 30 a unas 100 μm de grosor a partir de material congelado y se observación con el microscopio óptico. (COSMOS, 2012)

Los aparatos de corte más usados tradicionalmente para estudiar las características generales de los tejidos y de las células son el micrótomos para material incluido en parafina para observaciones con el microscopio óptico y el ultramicrótomos para observaciones con el microscopio electrónico de transmisión. El criostato se usa también frecuentemente en microscopía óptica por el ahorro de tiempo que supone ya que no necesita incluir el tejido, incluso se puede cortar material no fijado. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

1.5.5. Tinción

La mayoría de los tejidos, sobre todo los de los animales, son incoloros y por ello necesitamos teñirlos para observar sus características morfológicas. Las tinciones generales están basadas en el uso decolorantes, sustancias mediante las cuales se consigue colorear a los tejidos. Los colorantes son normalmente hidrosolubles y se caracterizan por unirse a ciertas moléculas presentes en los tejidos gracias a afinidades electro-químicas. Se utilizan normalmente para teñir a las células y componentes tisulares que van a ser observados con el microscopio óptico y por ello se realizan habitualmente sobre secciones de tejido, siendo las más utilizadas

las secciones obtenidas a partir de inclusiones en parafina u obtenidas en el criostato. (FAWCETT, 2001)

Los colorantes son los elementos principales de las tinciones generales. Son moléculas que poseen tres componentes importantes: un esqueleto incoloro, que normalmente es un anillo aromático de benceno, al cual se le unen dos tipos de radicales: uno que aporta el color, denominado cromóforo, y otro que posibilita la unión a elementos del tejido denominado auxocromo. Al conjunto de estos tres elementos unidos en una molécula se denomina cromógeno. (VIGO, 2014)

Según la naturaleza química del radical auxocromo los colorantes se clasifican en:

a) Básicos: son sales en las que la base aporta el color, mientras que la parte ácida es incolora. Tienen apetencia por sustancias ácidas del tejido como el ADN o ciertos componentes de la matriz extracelular como los glicosaminoglicanos. Así, ponen de manifiesto el núcleo y el ARN, sobre todo el ARNr presente en los ribosomas por ser muy abundante, así como ciertas matrices extracelulares ricas en componentes ácidos. Ejemplos de colorantes básicos son la tionina, safranina, azul de toluidina, el azul de metileno o la hematoxilina. (LACAVE, y otros, 2005)

b) Ácidos: son sales con el anión coloreado y la base incolora. Tienen apetencia por sustancias básicas, sobre todo estructuras proteicas localizadas en el citoplasma celular y también por el colágeno de la matriz extracelular. Ejemplos de colorantes ácidos son la fucsina ácida, verde rápido, naranja G o la eosina. (REDONDO, 2007)

c) Neutros: poseen una porción ácida y otra básica, ambas con capacidad para aportar color. Por tanto un mismo colorante puede teñir tanto las partes básicas como las ácidas de los tejidos. Por ejemplo, el eosinato de azul de metileno. (BACHA, y otros, 2001)

d) Indiferentes: realmente no se unen a elementos de los tejidos por afinidad química sino porque se disuelven en ellos. Por ejemplo, el colorante Sudán se disuelve en los lípidos y por tanto teñirá a las gotas de lípidos, especialmente en los adipocitos. (GAZQUEZ, y otros, 2009)

Cuando un colorante se une al tejido y refleja un color diferente al que tiene en solución se dice que ha ocurrido un fenómeno de metacromasia. Esto se debe a que las propiedades de absorción de la luz del colorante cambian al unirse a componentes celulares. Por ejemplo, el azul de toluidina se vuelve púrpura cuando se une a ciertos gránulos de los mastocitos. Cuando el colorante unido al tejido tiene el mismo color que en solución se denomina ortocromasia. (DELLMANN, 2004)

e) Tinción general. Una de las tinciones más comúnmente usada en histología es la hematoxilina-eosina sobre cortes de parafina. Como vemos se usa un colorante básico y otro ácido para teñir de diferente color a las estructuras ácidas y básicas de la célula. Antes de proceder a la tinción, si partimos de cortes de parafina, tenemos que llevar a cabo unos tratamientos previos sobre las secciones como es el desparafinado, y la hidratación puesto que estos colorantes son hidrosolubles. (PANIAGUA, 2007)

1.6. CASTRACIÓN QUIRÚRGICA (ORQUIECTOMIA)

Involucra la remoción quirúrgica de los testículos, es el más seguro de los métodos ya que elimina la fuente de producción de los espermatozoides como también de las hormonas testiculares, los cuales controlan el crecimiento de los órganos que influyen la conducta sexual. El acceso pre escrotal o perineal puede ser empleado para la castración, el primero es el más común y tiene menores dificultades. Los testículos son más difíciles de exteriorizarlos con el acceso perineal. (VELASCO, 2005)

Técnica Quirúrgica:

Colocar al paciente decúbito dorsal, verificar la presencia de ambos testículos en el escroto. Rasurar y preparar en forma aséptica el abdomen caudal y medial de los músculos. Colocar los paños de campo para excluir el escroto. Aplicar presión sobre el escroto para avanzar el testículo lo más lejos posible del centro del área preescrotal. Seccionar la piel y tejidos subcutáneos a lo largo del rafe mediano sobre el testículo desplazado, ya que cuando se incide sobre la envoltura

testicular, la mayor parte de la hemorragia se evita si no se realiza en las posiciones caudales de la misma. (FOSSUM, 2008)

Continuar la incisión a través de la fascia espermática para exteriorizar el testículo. Seccionar la túnica vaginal parietal sobre el testículo. No seccionar la túnica albugínea la cual expondría al parénquima testicular. Colocar una pinza hemostática a través de la túnica vaginal donde se une con el epidídimo. Separar digitalmente el ligamento de la cola del epidídimo desde la túnica mientras se aplica tracción con la pinza hemostática sobre la túnica. Exteriorizar adicionalmente el testículo mediante la aplicación de tracción caudal y hacia fuera. Ligar en forma individual los cordones vasculares y conducto deferente, luego incluirlos en una ligadura que los encierre. (FOSSUM, 2008)

Para las ligaduras utilizar material de sutura absorbible 2-0 o 3-0 (Catgut crómico, poligalactina, polidioxanona, poliglucanato). Colocar una pinza hemostática a través cerca del testículo, rasgar el conducto deferente y cordón vascular entre las pinzas y las ligaduras. Avanzar el segundo testículo hacia la incisión, seccionar la cobertura fascial y efectuar la extracción del testículo. Afrontar la fascia densa seccionada sobre ambos lados del pene con puntos interrumpidos o continuos. Hacer la síntesis de los tejidos subcutáneos con un patrón continuo. Afrontar el tegumento con patrón de sutura intradérmica, subcuticular o interrumpida simple. (FOSSUM, 2008)

1.7. INMUNOCASTRACIÓN O CASTRACIÓN INMUNOLÓGICA

La castración inmunológica consiste en la estimulación del sistema inmunitario del animal para que produzca anticuerpos específicos contra, en este caso, la GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas). Estos anticuerpos inhiben la actividad normal de la hormona GnRH, reducen las concentraciones plasmáticas de LH y FSH, e inhiben el desarrollo testicular y su funcionamiento. (PFIZER, 2010)

1.7.1 Innosure (Pfizer)

1.7.1.1 Mecanismo de acción

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 androsterona. (PFIZER, 2010)

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. 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. (PFIZER, 2010)

1.7.1.2 Composición

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. (PFIZER, 2010)

1.7.1.3 Dosis y Administración

Deben vacunarse los cerdos machos enteros desde 8 semanas de edad en adelante con dos dosis de 2 ml y con, al menos, 4 semanas de intervalo, administrando la segunda dosis 4-6 semanas antes del sacrificio. (PFIZER, 2010)

1.7.1.4 Contraindicaciones

INNOSURE no está recomendado para uso en reproductores. Si se administra inadvertidamente más de una dosis, puede afectar a la fertilidad de los machos reproductores. (PFIZER, 2010)

1.7.1.5 Posología y administración

- Se administran 2 ml en inyección subcutánea en la base de la oreja.
- Se deben administrar dos dosis con un intervalo mínimo de 4 semanas; además, la segunda dosis debe administrarse 4 a 5 semanas antes de la fecha prevista de sacrificio.
- Si los cerdos se mantienen durante más de 7-8 semanas tras la segunda dosis, la concentración de anticuerpos anti GnRF puede alcanzar un nivel inferior a la concentración eficaz, lo que permitiría el retorno de la función testicular y el riesgo de acumulación de olor sexual. (PFIZER, 2010)

CAPITULO II

En este capítulo se detalla las características geográficas y climáticas del lugar donde se realizó la investigación, así también describe el manejo de los conejos durante el ensayo, como también el diseño estadístico y experimental aplicado

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Ubicación del Experimento

El presente trabajo investigativo se llevó a cabo en:

Provincia: Cotopaxi.

Cantón: Latacunga.

Parroquia: Eloy Alfaro.

Sitio: Barrio Saláche bajo.

Longitud: -78.5666667°

Latitud: -0.9666667°

Altitud: 2800 m.s.n.m.

Temperatura promedio: 10 - 12°C

Humedad relativa promedio: 56 %.

Precipitación anual: 500 – 7000 mm / año.

Velocidad viento promedio anual: 7 - 14 km/h

Fuente: INAMHI

2.2. Recursos Materiales

- Alcohol
- Algodón
- Anestésicos

- Analgésicos
- Clorhexidina
- Equipo básico de cirugía
- Escalímetro
- Gasas
- Guantes
- Jeringuillas
- Mandil
- Rasuradora
- Recipientes estériles
- Tubos sin anticoagulante
- Termo de transporte

2.2.1. Biológicos

- Vacuna anti-GnRH (Innosure)

2.2.2. Materiales de oficina

- Anillados
- Carpeta
- Cámara digital
- Calculadora
- Computadora
- Cuaderno
- Empastados
- Esferográfico
- Flash memory
- Resma de hojas
- Otros

2.3. Tipo de Investigación

2.3.1. Descriptiva

Detalla las características más importantes del problema en estudio, en lo que respecta a su origen y desarrollo. Su objetivo es describir un problema en una circunstancia temporo-espacial determinada, es decir, detallar cómo es y cómo se manifiesta. (FLORES, 2001)

Se utilizó este tipo investigación debido a que los objetos de estudio se descomponen en diferentes como son parámetros hormonales, estudios histológicos y morfometría testicular.

2.3.2. Exploratoria

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

Se utilizó este tipo de investigación ya que se desconocía los efectos de la vacuna anti GnRH administrada en conejos.

2.3.3. Explicativa

Se encarga de buscar el porqué de los hechos mediante el establecimiento de relaciones causa-efecto. En este sentido, los estudios explicativos pueden ocuparse tanto de la determinación de las causas, como de los efectos, mediante la prueba de hipótesis. Sus resultados y conclusiones constituyen el nivel más profundo de conocimientos. (FLORES, 2001)

Se utilizó este tipo de investigación para conocer los efectos de la vacuna anti GnRh sobre las concentraciones hormonales de LH, FSH, Testosterona, Cortisol y estructuras tanto a nivel macroscópico como microscópico de los testículos.

2.4. Metodología

2.4.1 Métodos

2.4.1.1. Método Hipotético

Es el procedimiento o camino que sigue el investigador para hacer de su actividad una práctica científica. El método hipotético tiene varios pasos esenciales: observación del fenómeno a estudiar, creación de una hipótesis para explicar dicho fenómeno, deducción de consecuencias o proposiciones más elementales que la propia hipótesis, y verificación o comprobación de la verdad de los enunciados deducidos comparándolos con la experiencia. Este método obliga al científico a combinar la reflexión racional o momento racional (la formación de hipótesis y la deducción) con la observación de la realidad o momento empírico (la observación y la verificación). (POOPER, 2007)

Mediante el método hipotético se presumió que con la aplicación de la vacuna anti GnRH los niveles hormonales de LH, FSH, Testosterona y Cortisol disminuyen, también se supuso cambios a nivel histológico en las estructuras de los testículos se consiguió suprimir la capacidad reproductiva de los conejos.

2.4.1.2. Método Deductivo

El método deductivo consiste en la totalidad de reglas y procesos, con cuya ayuda es posible deducir conclusiones finales a partir de unos enunciados supuestos llamados premisas si de una hipótesis se sigue una consecuencia y esa hipótesis se da, entonces, necesariamente, se da la consecuencia. . (BUNGE, 2008)

Se supuso que la vacuna anteriormente descrita va a bloquear la producción de GnRH actuando directamente en los testículos de los conejos disminuyendo su capacidad reproductiva.

2.4.1.3. Método Experimental

Método en el que el investigador manipula una o más variables de estudio, para controlar el aumento o disminución de esas variables y su efecto en las conductas

observadas. Dicho de otra forma, un experimento consiste en hacer un cambio en el valor de una variable (variable independiente) y observar su efecto en otra variable (variable dependiente). (POOPER, 2007)

El método experimental permitió conocer con exactitud si la vacuna anti GnRH tuvo efectividad disminuyendo la capacidad reproductiva de los conejos tanto en los niveles hormonales como histológicamente en su tejido.

2.4.2. Técnicas

2.4.2.1. Técnica de Observación

Consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su posterior análisis. Es un elemento fundamental de todo proceso investigativo; en ella se apoya el investigador para obtener el mayor número de datos. (PIMIENGA, 2012)

Se utilizó la técnica de observación en todo el proceso investigación desde la selección de los animales, administración de la vacuna, obtención de las muestras, técnica de esterilización quirúrgica, proceso histológico y así obtener los datos que arrojaba esta investigación.

2.4.2.2. Técnica de fichaje

El fichaje es una técnica auxiliar de todas las demás técnicas empleada en investigación científica; consiste en registrar los datos que se van obteniendo en los instrumentos llamados fichas, las cuales, debidamente elaboradas y ordenadas contienen la mayor parte de la información que se recopila en una investigación. (BAVARESCO, 2006)

Se empleó esta técnica de investigación para llevar un registro documental de todos los datos que se obtuvieron durante todo el proceso de investigación.

2.5 Diseño Experimental

2.5.1 Diseño Completamente al Azar

El diseño completamente al azar parte de los conceptos de regresión lineal. Un análisis de la varianza permite determinar si diferentes tratamientos muestran diferencias significativas o por el contrario puede suponerse que sus medias poblacionales no difieren. El análisis de la varianza permite superar las limitaciones de hacer contrastes bilaterales por parejas (que son un mal método para determinar si un conjunto de variables con $n > 2$ difieren entre sí. El primer concepto fundamental es que todo valor observado puede expresarse mediante la siguiente función. (SPIEGEL, 2014)

CUADRO N° 1. ESQUEMA DE ADEVA

| FUENTES DE VARIACIÓN | GRADOS DE LIBERTAD |
|-----------------------------|---------------------------|
| TOTAL | 14 |
| TRATAMIENTO | 2 |
| ERROR | 12 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

2.5.1. Tratamientos

Se realizó tres tratamientos cada uno conformado de 5 animales.

T1 = Inmunoesterilizados

T2 = Esterilizados Quirúrgicamente

T3 = Testigo

CUADRO N° 2. RESUMEN DE TRATAMIENTOS

| TRATAMIENTOS | DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-------------------------------|
| T1 | Inmunoesterilizados |
| T2 | Esterilizados Quirúrgicamente |
| T3 | Testigos o Grupo Control |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

2.5.2. Unidades Experimentales

Se utilizaron un total de 15 conejos machos, seleccionados por características similares de edad (4 meses) y raza (Neo Zelandés).

2.6. Manejo del Ensayo

Esta investigación se la realizó en el Centro de Experimentación y Producción Salache (CEYPSA) de la Universidad Técnica de Cotopaxi, tomando en cuenta para la selección de los animales que sean de similares características.

2.6.1. Selección y distribución de los animales

Se seleccionaron un total de 15 conejos machos de características similares de edad (4 meses) y raza (Neo Zelandés), divididos al azar en tres grupos conformado de 5 animales cada uno.

Grupo 1: Inmunoesterilizados

Grupo 2: Esterilizados Quirúrgicamente

Grupo 3: Testigos

2.6.2. Toma de datos e identificación a cada grupo

Los animales de cada grupo fueron identificados individualmente en su ficha para determinar las principales características, también cada grupo fueron identificados con una respectiva nomenclatura y numeración.

Grupo 1: Inmunoesterilizados

- IE 1
- IE2
- IE3
- IE4
- IE5

Grupo 2: Esterilizados Quirúrgicamente

- EQ1
- EQ2

- EQ3
- EQ4
- EQ5

Grupo 3: Testigos

- T1
- T2
- T3
- T4
- T5

2.6.3. Toma de muestras sanguíneas Pre – Experimentación

La toma de muestras de sangre se la realizó con todas las normas de higiene y asepsia posible. La extracción de la muestra sanguínea fue mediante punción cardiaca, utilizando agujas hipodérmicas de 24G x 1” y jeringas de 3ml. Se extrajo una cantidad de 1ml de sangre de cada animal para realizar los análisis hormonales de las siguientes hormonas: Hormona Luteinizante (LH), Foliculoestimulante (FSH), Testosterona (T4) y Cortisol.

2.6.4. Aplicación de la vacuna anti – GnRH

La vacuna se administró al grupo denominado inmunoesterilizados a una dosis de 0.5 ml por vía subcutánea con un intervalo de 15 días administrándose un total de 4 dosis.

2.6.5. Toma de muestras sanguíneas Post – Experimentación

La toma de muestras post – experimentación de sangre se la realizó con todas las normas de higiene y asepsia posible. La extracción de la muestra sanguínea fue mediante punción cardiaca, utilizando agujas hipodérmicas de 24G x 1” y jeringas de 3ml. Se extrajo una cantidad de 1ml de sangre de cada animal para realizar los análisis hormonales de las siguientes hormonas: Hormona Luteinizante (LH), Foliculoestimulante (FSH), Testosterona (T4) y Cortisol.

Grupo Inmunoesterilizado: la toma de muestras de este grupo se lo realizó 15 días después de la última aplicación de la vacuna anti GnRH.

Grupo Esterilizado Quirúrgicamente: la toma de muestras de este grupo se realizó 15 días después de la Orquiectomía en cuanto se refiere a las siguientes hormonas (LH, FSH, T4), mientras que cortisol se obtuvo la muestra inmediatamente después de la orquiectomía.

Grupo Testigo: la toma de muestras de este grupo se realizó antes de realizar ningún tipo de procedimiento para evitar que los valores salgan alterados.

2.6.6. Extracción de los testículos (Orquiectomía)

La extracción de los testículos de los animales se la realizó mediante la técnica de castración pre-escrotal mediante una sola incisión. La castración se la realizó a todos los animales para posteriormente los testículos someterlos a un estudio histológico.

2.6.7. Proceso Histológico

2.6.7.1. Obtención del Tejido

El proceso histológico comienza con la obtención del tejido objeto de estudio. En el caso de esta investigación se trata de testículos de conejos los cuales fueron obtenidos mediante la técnica de Orquiectomía tradicional. Para los tejidos animales podemos optar por dos opciones: coger una porción del tejido u órgano y procesarla o procesar primero el animal completo y luego extraer la muestra que nos interese. En cualquier caso las muestras son habitualmente fijadas con unas soluciones líquidas denominadas fijadores.

2.6.7.2. Fijación

La fijación de los tejidos se la realizó en formol al 5 % mediante la técnica de inmersión en donde el tejido queda completamente sumergido en la sustancia fijadora para conservar en buen estado los tejidos.

El formaldehído o formol actúa mediante la formación de puentes entre las moléculas tisulares. Se utiliza a concentraciones próximas al 4 %. Es un fijador ampliamente usado por la buena preservación del tejido, actúa como conservante,

produce poca retracción tisular, es un buen fijador para lípidos, es compatible con la mayoría de las tinciones histológicas.

2.6.7.3. Corte y extracción de la muestra a procesarse

Los testículos antes de ser procesados se los coloco en alcohol al 70 %, esto nos ayudo a eliminar la sustancia de fijación (formol). Se los dejo reposar por un periodo de tiempo para luego proceder a obtener una pequeña muestra del testículo. Se realizó un corte trasversal del testículo de aproximadamente 3mm de grosor.

2.6.7.4. Deshidratación e inclusión en parafina

Una vez que se realizó los cortes y se obtuvo las muestras se los coloco en los cassets de histopatología para procesar las muestras en el histoprocador automático de tejidos. El histoprocador la función que realiza es de deshidratar el tejido e introducir parafina nivel celular mediante una serie de pasos y reactivos.

CUADRO N° 3. PROCESO DE INCLUSIÓN DE PARAFINA A NIVEL CELULAR

| Paso: | Reactivos: | Tiempo: |
|--------------|-------------------|----------------|
| 01 | Alcohol 96% | 0 |
| 02 | Alcohol 70% | 3:30 |
| 03 | Alcohol 70% | 5:30 |
| 04 | Alcohol 70% | 1:00 |
| 05 | Alcohol 96% | 1:00 |
| 06 | Alcohol 96% | 1:00 |
| 07 | Alcohol 100% | 1:00 |
| 08 | Alcohol 100% | 1:00 |
| 09 | Xilol | 1:00 |
| 10 | Xilol | 1:00 |
| 11 | Parafina | 1:00 |
| 12 | Parafina | 1:00 |

Fuente: Directa
Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

2.6.7.5. Inclusión en parafina líquida y formación del bloque

Una vez terminado el proceso en el histoprocador de tejidos se procedió a la inclusión en parafina líquida para formar los bloques para su posterior corte.

El proceso para realizar la inclusión en parafina líquida de los tejidos se lleva mediante un proceso en donde se tiene una maquina llamada Plato Frio con una temperatura de (-20° C), una maquina denominada Plato Caliente en donde la superficie se encuentra a (65°C) y la parafina a (64°C) y la Cámara de conservación térmica a (65°C).

Pasos:

- Retirar las muestras del histoprocador
- Colocar inmediatamente en la maquina de conservación térmica
- Extraer el tejido del casset y colocarlo en el molde ubicándolo fijamente en el centro, posteriormente agregar la parafina líquida y colocar la cubierta del casset.
- Colocar el molde en el plato frio para conseguir la solidificación de la parafina hasta que este bien compacto.
- Mantener en refrigeración los bloques de parafina.

2.6.7.6. Corte mediante micrótopo para parafina

El corte del bloque de parafina el cual contiene la muestra de tejido se lo realizó utilizando un micrótopo para parafina este micrótopo nos da corte que van de 5 a 20 um. Se calibro para que la muestra sea una película de 5um para tener una mejor definición del tejido.

2.6.7.7. Recolección de la muestra en el portaobjetos

Una vez que se realizó el corte y se obtuvo las finas películas se las pone en baño maría a una temperatura entre 41° y 43°C. Se sumerge el portaobjetos y cuidadosamente procedemos a coleccionar la muestra que se encuentra flotando en el baño maría tratando de que la muestra quede en el centro. Una vez recolectadas las muestras se deja a secar.

2.6.7.8. Tinción

El proceso de tinción conlleva varias etapas.

Desparafinado e hidratación:

En esta etapa las muestras se las coloco en la maquina de Desparafinado e hidratación para su posterior tinción.

CUADRO N° 4. Proceso de Desparafinado, hidratación y tinción

| Estación: | Reactivos: | Tiempo: |
|------------------|-------------------|----------------|
| 01 | Xilol | 7 min |
| 02 | Xilol | 7 min |
| 03 | Alcohol 100% | 5 min |
| 04 | Alcohol 100% | 5 min |
| 05 | Alcohol 96% | 5 min |
| 06 | Alcohol 70% | 5 min |
| 07 | Agua destilada | 5 min |
| 08 | Hematoxilina | 1 min |
| 09 | Eosina | 20 seg |
| 10 | Alcohol 70% | 5 min |
| 11 | Alcohol 96% | 5 min |
| 12 | Xilol | 5 min |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Terminado este proceso se pone las placas a lavar en agua de grifo a chorro continuo esto se realiza ya que las sales del agua permiten obtener una coloración más violácea, en vez de púrpura.

Deshidratación:

La deshidratación final es necesaria porque el medio de montaje no suele ser hidrosoluble. Este proceso se lo realizó de la siguiente manera.

CUADRO N° 5. Proceso de Deshidratación y aclaración final

| Paso: | Reactivos: | Tiempo: |
|--------------|-------------------|----------------|
| 01 | Alcohol 70% | 3 min |
| 02 | Alcohol 96% | 3 min |
| 03 | Alcohol 100% | 3 min |
| 04 | Alcohol 100% | 3 min |
| 05 | Xilol 1 | 5 min |
| 06 | Xilol 2 | 5 min |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Montaje:

Este procedimiento consiste en colocar encima del corte coloreado y diafanizado unas gotas de una sustancia adherente, diluida, generalmente en xilol (resina natural como el bálsamo de Canadá o resinas sintéticas, cuyos índices de refracción son similares a los del vidrio) y encima de ellos, una laminilla cubreobjetos, cuidando que no queden burbujas de aire entre la resina.

2.6.7.9. Observación

La observación e interpretación de las placas se las realizo mediante un microscopio óptico utilizando los lentes de 10 x y 40 x.

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente capítulo se analizan los resultados obtenidos en la investigación como son los niveles de concentración hormonal pre y post experimentación, morfometría testicular, diámetro de los túbulos seminíferos e interpretación de las placas histológicas.

3.1 Niveles de Concentración Hormonal Pre- Experimentación

3.1.1 Concentración Pre-Experimentación de Hormona LH

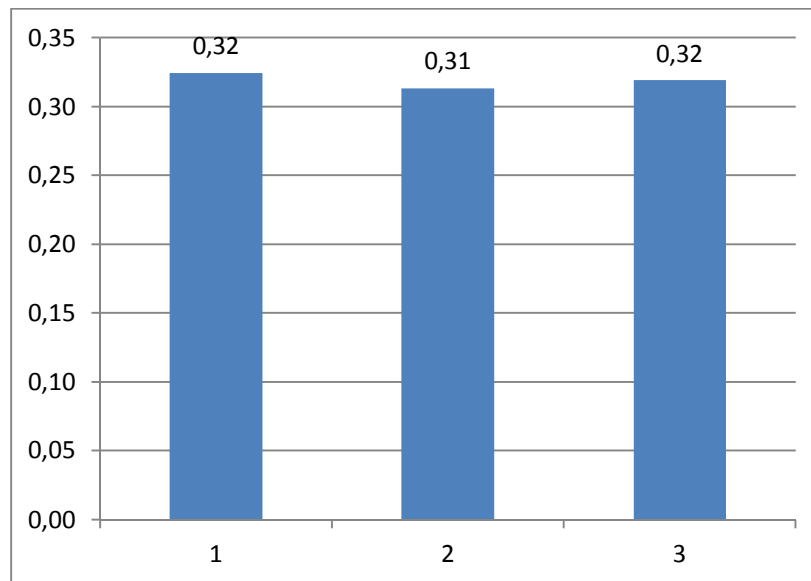
Tabla N° 1. LH mUI/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,34 | 0,30 | 0,30 |
| 2 | 0,32 | 0,31 | 0,33 |
| 3 | 0,34 | 0,31 | 0,34 |
| 4 | 0,29 | 0,32 | 0,32 |
| 5 | 0,34 | 0,32 | 0,30 |
| PROMEDIO | 0,32 | 0,31 | 0,32 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 1. Promedios de LH mUI/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 2. Adeva para LH mUI/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p | |
|-------------|--------|----|--------|------|---------|----|
| TRATAMIENTO | 0,0003 | 2 | 0,0001 | 0,49 | 0,6223 | Ns |
| ERROR | 0,0038 | 12 | 0,0003 | | | |
| TOTAL | 0,0041 | 14 | | | | |
| CV% | 5,59 | | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Como se puede observar en la tabla N° 2, no existe diferencia significativa para la hormona LH mUI/ml. de acuerdo al valor de p (0,623), en relación a la tabla N° 1 y gráfico N° 1, se puede determinar que existe diferencia numérica de promedios siendo el t1 y el t3 los de mayor concentración con 0,32 mUI/ml.

3.1.2 Concentración Pre-Experimentación de Hormona FSH

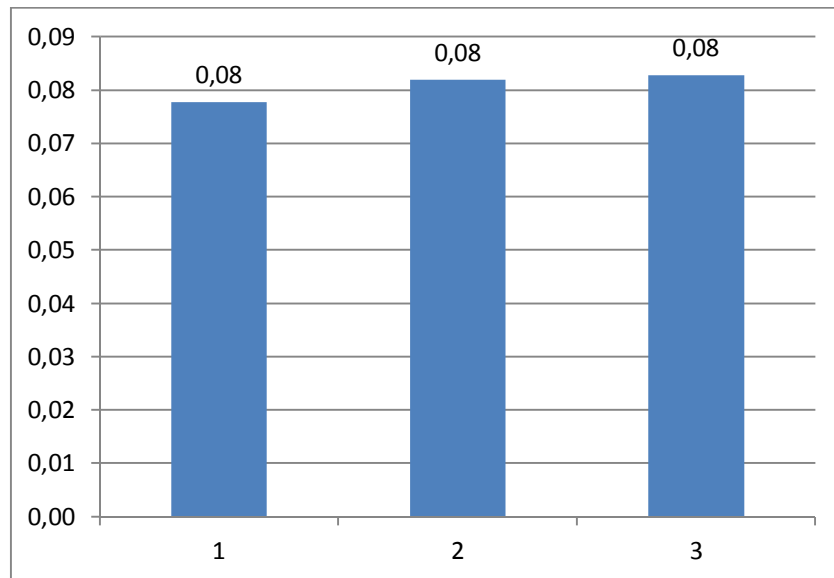
Tabla N° 3. FSH mUI/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,08 | 0,09 | 0,09 |
| 2 | 0,09 | 0,07 | 0,07 |
| 3 | 0,08 | 0,07 | 0,10 |
| 4 | 0,07 | 0,09 | 0,09 |
| 5 | 0,07 | 0,09 | 0,08 |
| PROMEDIO | 0,08 | 0,08 | 0,08 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 2. Promedios de FSH mUI/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 4. Adeva para FSH mUI/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p | |
|-------------|---------|----|---------|-----|---------|----|
| TRATAMIENTO | 0,00007 | 2 | 0,00003 | 0,3 | 0,7452 | Ns |
| ERROR | 0,0014 | 12 | 0,00012 | | | |
| TOTAL | 0,0015 | 14 | | | | |
| CV% | 13,53 | | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Como se evidencia en la tabla N° 4, el valor de p (0,7452) no existe una diferencia significativa para la hormona Fsh mUI/ml. Al observar la tabla N° 3 y el gráfico N° 2 no existen diferencias teniendo el mismo promedio en todos los tratamientos con 0,08 mUI/ml.

3.1.3 Concentración Pre-Experimentación de Hormona Testosterona

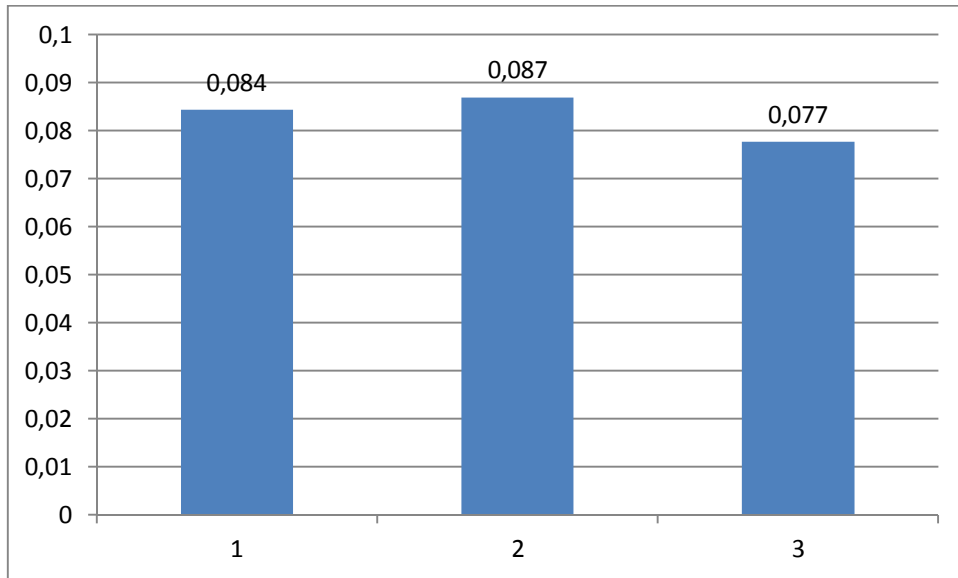
Tabla N° 5. Testosterona ng/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|-------|-------|-------|
| 1 | 0,065 | 0,088 | 0,078 |
| 2 | 0,087 | 0,077 | 0,083 |
| 3 | 0,076 | 0,102 | 0,076 |
| 4 | 0,109 | 0,092 | 0,081 |
| 5 | 0,085 | 0,076 | 0,077 |
| PROMEDIO | 0,084 | 0,087 | 0,077 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 3. Promedios de testosterona ng/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 6. Adeva para testosterona ng/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p | |
|-------------|--------|----|---------|------|---------|----|
| TRATAMIENTO | 0,0002 | 2 | 0,00011 | 0,83 | 0,4604 | Ns |
| ERROR | 0,0016 | 12 | 0,00014 | | | |
| TOTAL | 0,0019 | 14 | | | | |
| CV% | 14,03 | | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Como se determina en la tabla N° 5 y el gráfico N° 3, existe una diferencia numérica de promedios siendo el T2 (0,087 ng/ml) con una mayor concentración. Al realizar el análisis estadístico en la tabla N° 6, se observa que no existen diferencias significativas en el presente parámetro dando un valor de p (0,4604)

3.1.4. Concentración Pre-Experimentación de Hormona Cortisol

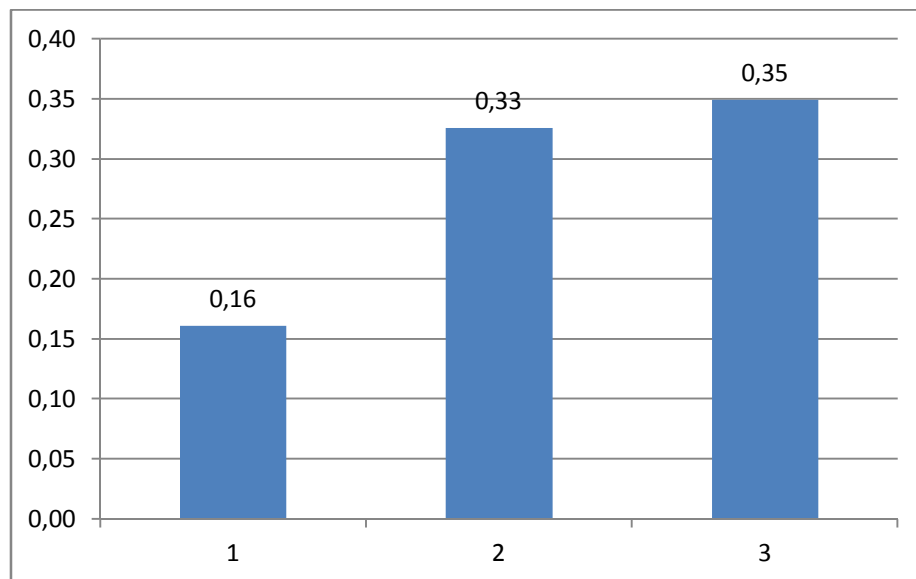
Tabla N° 7. Cortisol ng/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,16 | 0,34 | 0,39 |
| 2 | 0,17 | 0,33 | 0,36 |
| 3 | 0,16 | 0,32 | 0,31 |
| 4 | 0,16 | 0,31 | 0,33 |
| 5 | 0,16 | 0,32 | 0,36 |
| PROMEDIO | 0,16 | 0,33 | 0,35 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 4. Promedios de cortisol ng/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 8. Adeva para cortisol ng/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|--------|----|-------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 0,11 | 2 | 0,05 | 159,72 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,0039 | 12 | 0,003 | | |
| TOTAL | 0,11 | 14 | | | |
| CV% | 6,51 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 9. Prueba Duncan al 5% para cortisol ng/ml

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 0,16 | B |
| 2 | 0,33 | A |
| 3 | 0,35 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Como se puede observar en el gráfico N° 4 el t3 alcanzó una mayor concentración de cortisol con 0,35 ng/ml. Que se puede corroborar con lo que se reporta en la tabla N° 7, donde el tratamiento mencionado supera a los tratamientos t1 y t2.

Como se observa en la tabla N° 8, se registran diferencias entre tratamientos en relación a la concentración de cortisol (valor de $p < 0,0001$), por lo que se realizó la prueba de significancia Duncan al 5% dando que el T3 es el que mayor concentración de cortisol obtuvo.

Se observó una mayor concentración de cortisol tanto en el grupo T (0.35 ng/ml) así como también en los EQ (0.33 ng/ml), a causa de la punción cardiaca y el manejo al momento de la obtención de la muestra sanguínea.

3.2. Niveles de Concentración Hormonal Post- Experimentación

3.2.1 Concentración Post-Experimentación de Hormona LH

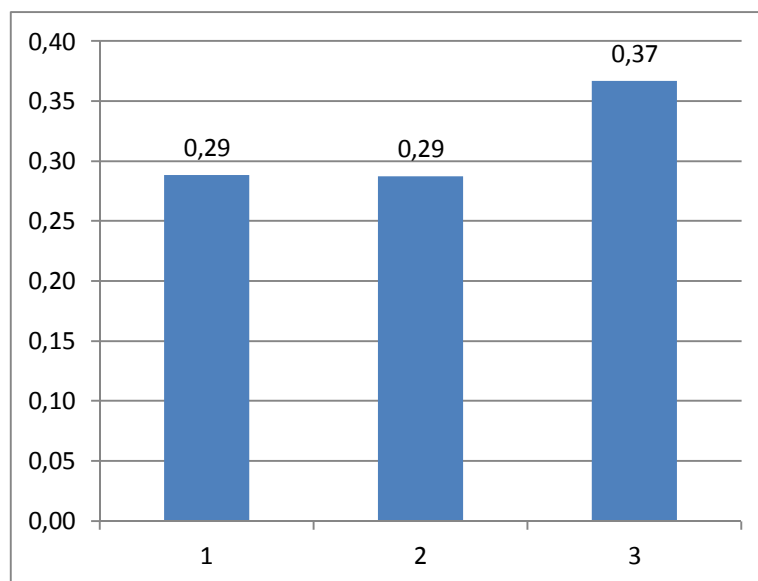
Tabla N° 10. LH mUI/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,32 | 0,29 | 0,37 |
| 2 | 0,30 | 0,28 | 0,37 |
| 3 | 0,29 | 0,29 | 0,38 |
| 4 | 0,22 | 0,30 | 0,37 |
| 5 | 0,32 | 0,28 | 0,35 |
| PROMEDIO | 0,29 | 0,29 | 0,37 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 5. Promedios de LH mUI/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 11. Adeva para LH mUI/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------|----|--------|-------|----------|
| TRATAMIENTO | 0,02 | 2 | 0,01 | 16,54 | 0,0004 * |
| ERROR | 0,01 | 12 | 0,0006 | | |
| TOTAL | 0,03 | 14 | | | |
| CV% | 7,97 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 12. Prueba Duncan al 5 %, para LH mUI/ml

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 0,29 | B |
| 2 | 0,29 | B |
| 3 | 0,37 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En la tabla N° 10 y el gráfico N° 5, se establece que hay una diferencias numéricas de promedios dando que el T3 (0,37 mUI/ml) tiene el mejor incremento.

En cuanto a la tabla N° 11 se observa que el valor de p es <0,0004 existiendo diferencia significativa por lo que se realizó la prueba de significancia Duncan al 5%, donde se determina que el T3 es el mejor.

Los resultados presentados confirman que la aplicación de la vacuna influye en la concentración de LH debido a que se bloquea la liberación de GnRH por lo tanto inhibe la liberación de LH, en el caso de los IE disminuyo de (0.32mUI/ml a 0.29mUI/ml), en el caso de los EQ disminuyo de (0.31mUI/ml a 0.29mUI/ml) debido a la ausencia de los testículos, mientras que en los testigos existió un incremento normal de (0.32mUI/ml a 0.37mUI/ml).

3.2.2. Concentración Post-Experimentación de Hormona FSH

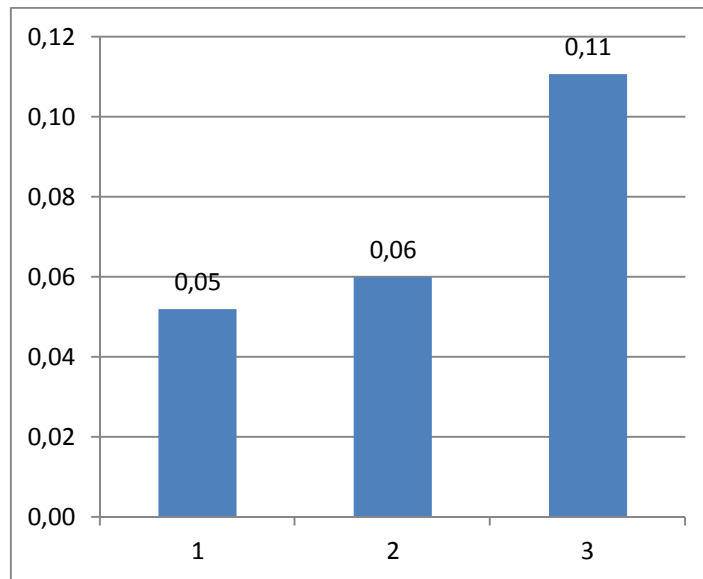
Tabla N° 13. FSH mUI/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,05 | 0,07 | 0,11 |
| 2 | 0,06 | 0,05 | 0,11 |
| 3 | 0,06 | 0,05 | 0,12 |
| 4 | 0,05 | 0,07 | 0,11 |
| 5 | 0,04 | 0,06 | 0,11 |
| PROMEDIO | 0,05 | 0,06 | 0,11 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 6. Promedios de FSH mUI/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 14. Adeva para FSH mUI/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p | |
|-------------|---------|----|---------|------|---------|----|
| TRATAMIENTO | 0,00018 | 2 | 0,00008 | 2,26 | 0,147 | ns |
| ERROR | 0,00047 | 12 | 0,00003 | | | |
| TOTAL | 0,00065 | 14 | | | | |
| CV% | 5,63 | | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Como se puede observar en la tabla N° 13 sobre la concentración de FSH en mUI/ml, el mejor promedio lo obtuvo el t1 con una concentración de 0,05 mUI/ml, analizando la tabla N° 14 se puede establecer que hay diferencias significativas por lo que el valor p fue de 0,147 ($p > 0,05$).

En cuanto a la hormona FSH también se produjo una disminución en su concentración en los animales IE de (0.08mUI/ml a 0.05mUI/ml) debido a que se bloquea la liberación de GnRH por lo tanto inhibe la liberación de FSH, en los EQ de igual manera se redujo la concentración de FSH de (0.08mUI/ml a 0.06mUI/ml) debido a la orquiectomía realizado en estos, en tanto que en los testigos existió un incremento normal como era esperado de (0.08mUI/ml a 0.11mUI/ml).

3.2.3. Concentración Post-Experimentación de Hormona Testosterona

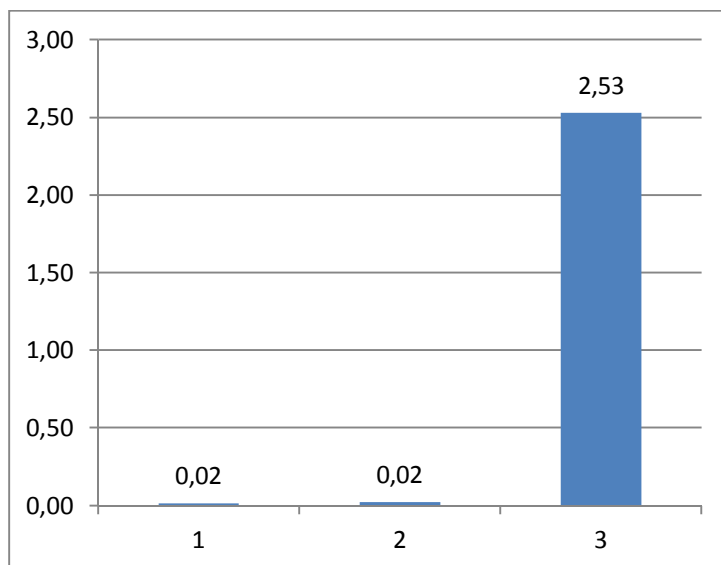
Tabla N° 15. Testosterona ng/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 0,01 | 0,03 | 2,96 |
| 2 | 0,01 | 0,03 | 2,40 |
| 3 | 0,02 | 0,02 | 2,13 |
| 4 | 0,02 | 0,02 | 2,63 |
| 5 | 0,02 | 0,02 | 2,53 |
| PROMEDIO | 0,02 | 0,02 | 2,53 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 7. Promedios de Testosterona ng/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 16. Adeva para testosterona ng/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|-------|----|------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 21,01 | 2 | 10,5 | 338,85 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,37 | 12 | 0,03 | | |
| TOTAL | 21,38 | 14 | | | |
| CV% | 20,56 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 17. Prueba Duncan al 5%, para testosterona ng/ml

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 0,02 | B |
| 2 | 0,02 | B |
| 3 | 2,53 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En lo que respecta a la concentración de testosterona se puede observar en la tabla N° 15 y el gráfico N° 7, donde el tratamiento t3 alcanzó la mayor concentración con 2,53 ng/ml, valor que es confirmado por la tabla N° 17, donde el mencionado tratamiento ocupa el primer rango de significación en la prueba Duncan al 5%, realizada una vez obtenidas las diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0,0001$).

Los resultados presentados confirman que la aplicación de la vacuna influye en la concentración de Testosterona, en el caso de los IE disminuyó de (0.084ng/ml a 0.02ng/ml) debido directamente a la disminución en la concentración hormonal de LH ya que esta hormona estimula la producción de testosterona en las células de Leydig, en el caso de los EQ disminuyó de (0.087ng/ml a 0.2ng/ml) debido a la orquiectomía que fueron sometidos, mientras que en los testigos existió un incremento normal fisiológico de (0.077ng/ml a 2.53ng/ml).

3.2.4. Concentración Post-Experimentación de Hormona Cortisol

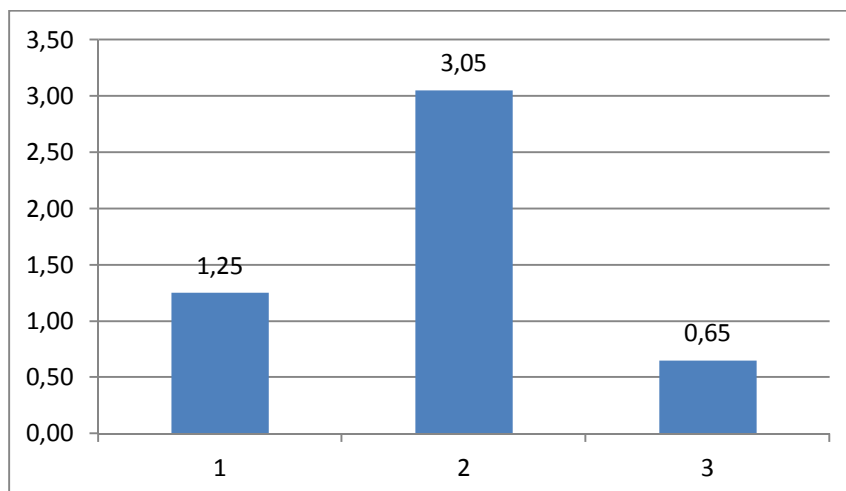
Tabla N° 18. Cortisol ng/ml

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 1,12 | 3,12 | 0,92 |
| 2 | 1,24 | 3,24 | 0,78 |
| 3 | 1,90 | 2,90 | 0,49 |
| 4 | 0,98 | 2,97 | 0,50 |
| 5 | 1,02 | 3,02 | 0,57 |
| PROMEDIO | 1,25 | 3,05 | 0,65 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 8. Promedios de Cortisol ng/ml



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 19. Adeva para cortisol ng/ml

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|-------|----|------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 15,58 | 2 | 7,79 | 119,74 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,78 | 12 | 0,07 | | |
| TOTAL | 16,36 | 14 | | | |
| CV% | 15,45 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 20. Prueba Duncan al 5%, para cortisol ng/ml

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 1,25 | B |
| 2 | 3,05 | A |
| 3 | 0,65 | C |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Al observar la tabla N° 18 y el gráfico N° 8, en relación a la concentración de cortisol se determina que hay una diferencia numérica significativa dando como al mejor tratamiento al T2 con 3,05 ng/ml.

La tabla N° 19 indica diferencias significativas para tratamientos ya que el valor de $p < 0,0001$, por lo que se realizó la prueba de Duncan al 5%, donde se establece claramente que la mayor concentración la obtuvo el tratamiento es el T2.

En el caso de Cortisol se obtuvo niveles incrementados en el grupo de EQ (3.05ng/ml) debido al estrés y dolor que se genera en la orquiectomía, mientras que en el grupo IE (1,25 ng/ml) y T (0.65ng/ml) existió una liberación de cortisol en menor proporción debido a la punción cardiaca y el manejo al momento de la toma de muestras sanguíneas.

3.3. Morfometría Testicular

3.3.1. Testículo Izquierdo

3.3.1.1. Medición Longitudinal Testículo Izquierdo

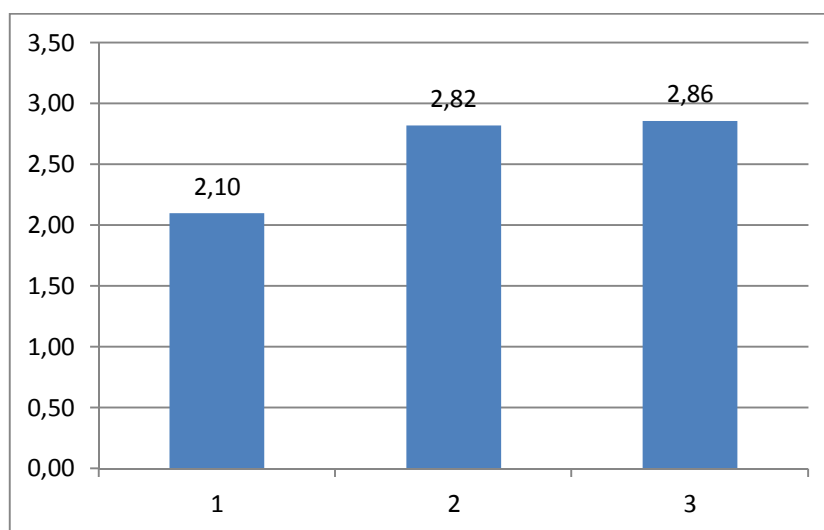
Tabla N° 21. Morfometría longitudinal (cm) del testículo izquierdo

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 2,20 | 2,80 | 2,80 |
| 2 | 2,10 | 2,90 | 2,90 |
| 3 | 2,00 | 2,80 | 2,80 |
| 4 | 2,10 | 2,70 | 2,90 |
| 5 | 2,10 | 2,90 | 2,90 |
| PROMEDIO | 2,10 | 2,82 | 2,86 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 9. Promedios de Morfometría longitudinal (cm), del testículo izquierdo



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 22. Adeva para Morfometría longitudinal (cm) del testículo izquierdo

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------|----|------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 1,83 | 2 | 0,91 | 182,93 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,06 | 12 | 0,01 | | |
| TOTAL | 1,89 | 14 | | | |
| CV% | 2,73 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 23. Prueba Duncan al 5%, para morfometría longitudinal (cm) del testículo izquierdo.

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 2,10 | B |
| 2 | 2,82 | A |
| 3 | 2,86 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En lo que respecta para la morfometría longitudinal del testículo izquierdo el mejor promedio lo obtuvo el tratamiento t1 con 2,10 cm, como se reporta en la tabla N° 21 y se puede observar en el gráfico N° 9.

En lo que se refiere al análisis estadístico reportado en la tabla N° 22, existe diferencia significativa para los tratamientos donde se obtuvo un valor $p < 0,0001$. Por lo que se realizó la prueba Duncan al 5%, donde el tratamiento t1 se ubicó categóricamente en el primer rango con una morfometría longitudinal de 2,10 cm.

Los resultados presentados reportan una hipotrofia notable en el testículo izquierdo de los animales IE de (2.10cm) en su medición longitudinal debido a la disminución de concentración hormonal de LH, FSH y testosterona provocando un anormal desarrollo testicular, frente a los testículos de los grupos EQ (2.82cm) y T (2.86cm) los cuales tuvieron un desarrollo normal.

3.3.1.2. Medición Transversal Testículo Izquierdo

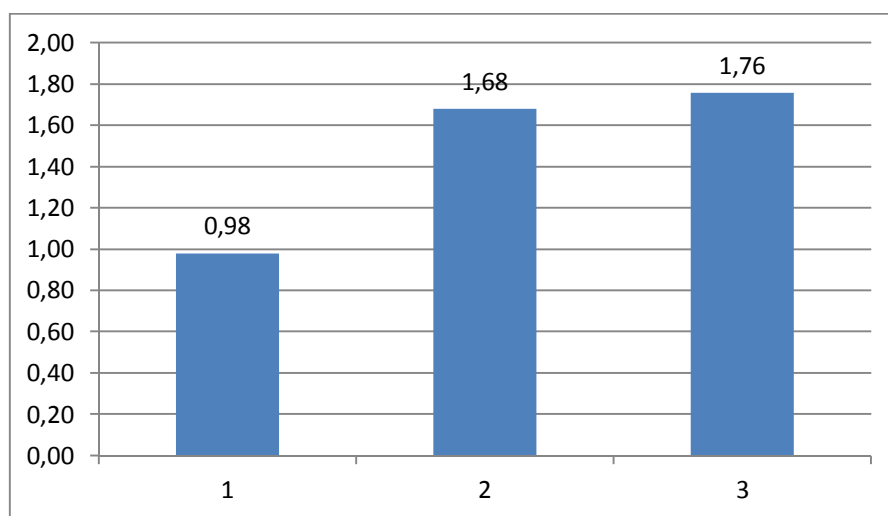
Tabla N° 24. Morfometría transversal (cm) del testículo izquierdo.

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 1,00 | 1,70 | 1,70 |
| 2 | 1,00 | 1,70 | 1,80 |
| 3 | 1,00 | 1,60 | 1,70 |
| 4 | 0,90 | 1,60 | 1,80 |
| 5 | 1,00 | 1,80 | 1,80 |
| PROMEDIO | 0,98 | 1,68 | 1,76 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N°10. Promedios de morfometría transversal (cm), del testículo izquierdo



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 25. Adeva para morfometría transversal (cm) del testículo izquierdo.

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------|----|--------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 1,84 | 2 | 0,92 | 230,17 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,05 | 12 | 0,0004 | | |
| TOTAL | 1,89 | 14 | | | |
| CV% | 4,29 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 26. Prueba Duncan al 5% para morfometría transversal (cm) del testículo izquierdo.

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 0,98 | B |
| 2 | 1,68 | A |
| 3 | 1,76 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En lo que respecta para la morfometría transversal del testículo izquierdo el mejor promedio lo obtuvo el tratamiento t1 con 0,98 cm, como se reporta en la tabla N° 24 y se puede observar en el gráfico N° 10.

En lo que se refiere al análisis estadístico reportado en la tabla N° 25, existe diferencia significativa para los tratamientos donde se obtuvo un valor $p < 0,0001$. Por lo que se realizó la prueba Duncan al 5%, donde el tratamiento t1 se ubicó categóricamente en el primer rango con una morfometría transversal de 0,98 cm.

Los resultados presentados reportan una hipotrofia notable en el testículo izquierdo de los animales IE de (0.98cm) en su medición transversal debido a la disminución de concentración hormonal de LH, FSH y testosterona provocando un anormal desarrollo testicular, frente a los testículos de los grupos EQ (1.68cm) y T (1.76cm) que presentaron un desarrollo normal.

3.3.2. Testículo Derecho

3.3.2.1. Medición Longitudinal Testículo Derecho

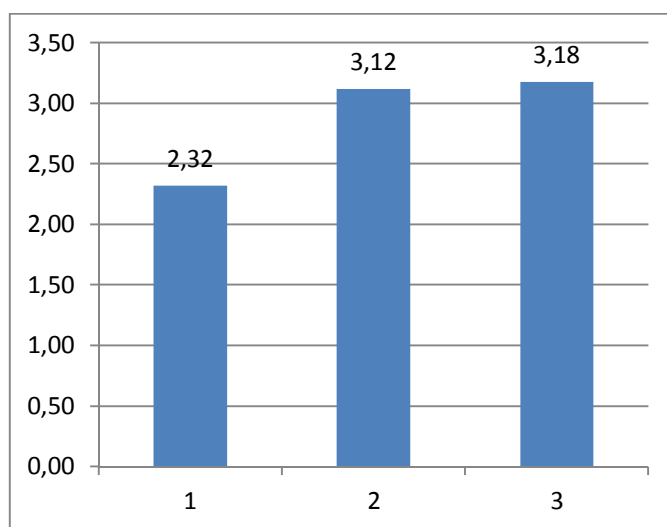
Tabla N° 27. Morfometría longitudinal (cm) del testículo derecho.

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 2,40 | 3,00 | 3,00 |
| 2 | 2,30 | 3,10 | 3,20 |
| 3 | 2,20 | 3,10 | 3,10 |
| 4 | 2,40 | 3,20 | 3,30 |
| 5 | 2,30 | 3,20 | 3,30 |
| PROMEDIO | 2,32 | 3,12 | 3,18 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 11. Promedios de morfometría longitudinal (cm), del testículo derecho.



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 28. Adeva para morfometría longitudinal (cm) del testículo derecho.

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------|----|------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 2,31 | 2 | 1,15 | 111,55 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,12 | 12 | 0,01 | | |
| TOTAL | 2,43 | 14 | | | |
| CV% | 3,54 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 29. Prueba Duncan al 5%, para morfometría longitudinal (cm) del testículo derecho.

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 2,32 | B |
| 2 | 3,12 | A |
| 3 | 3,18 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En lo que respecta para la morfometría longitudinal del testículo derecho el mejor promedio lo obtuvo el tratamiento t1 con 2,32 cm, como se reporta en la tabla N° 31 y se puede observar en el gráfico N° 11.

En lo que se refiere al análisis estadístico reportado en la tabla N° 28, existen diferencias significativas para los tratamientos donde se obtuvo un valor $p < 0,0001$. Por lo que se realizó la prueba Duncan al 5%, donde el tratamiento t1 se ubicó categóricamente en el primer rango con una morfometría longitudinal de 2,32 cm.

Los resultados presentados reportan una hipotrofia notable en el testículo derecho de los animales IE de (2.32cm) en su medición longitudinal debido a la disminución de concentración hormonal de LH, FSH y testosterona provocando un anormal desarrollo testicular, frente a los testículos de los grupos EQ (3.12cm) y T (3.18cm) los cuales tuvieron un desarrollo normal.

3.3.2.2 Medición Transversal Testículo Derecho

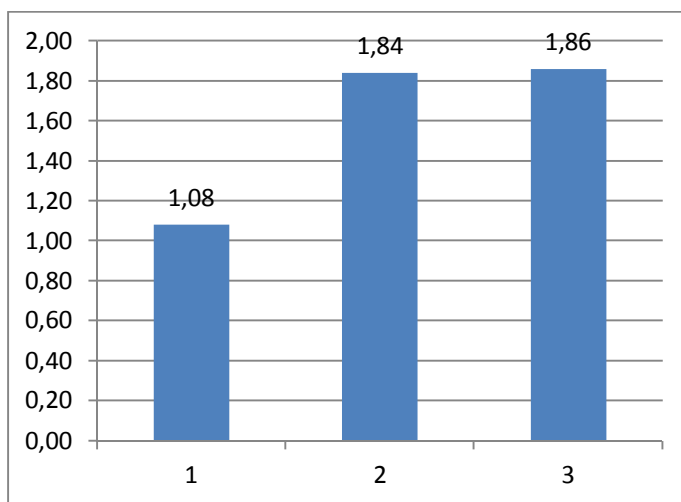
Tabla N° 30. Morfometría transversal (cm) del testículo derecho.

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|------|------|------|
| 1 | 1,10 | 1,80 | 1,80 |
| 2 | 1,10 | 1,90 | 1,90 |
| 3 | 1,00 | 1,80 | 1,80 |
| 4 | 1,10 | 1,90 | 1,90 |
| 5 | 1,10 | 1,80 | 1,90 |
| PROMEDIO | 1,08 | 1,84 | 1,86 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 12. Promedios de morfometría transversal (cm), del testículo derecho.



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 31. Adeva para morfometría transversal (cm) del testículo derecho.

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------|----|--------|--------|-----------|
| TRATAMIENTO | 1,98 | 2 | 0,99 | 370,75 | <0,0001 * |
| ERROR | 0,03 | 12 | 0,0027 | | |
| TOTAL | 2,01 | 14 | | | |
| CV% | 3,24 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 32. Prueba Duncan al 5%, para morfometría transeversal (cm) del testículo derecho.

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 1,08 | B |
| 2 | 1,84 | A |
| 3 | 1,86 | A |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

En lo que respecta para la morfometría transversal del testículo derecho el mejor promedio lo obtuvo el tratamiento t1 con 1,08 cm, como se reporta en la tabla N° 30 y se puede observar en el gráfico N° 12.

En lo que se refiere al análisis estadístico reportado en la tabla N° 31, existe diferencia significativa para los tratamientos donde se obtuvo un valor $p < 0,0001$. Por lo que se realizó la prueba Duncan al 5%, donde el tratamiento t1 se ubicó categóricamente en el primer rango con una morfometría transversal de 1,08 cm.

Los resultados presentados reportan una hipotrofia notable en el testículo derecho de los animales IE de (1.08cm) en su medición transversal debido a la disminución de concentración hormonal de LH, FSH y testosterona provocando un anormal desarrollo testicular, frente a los testículos de los grupos EQ (1.84cm) y T (1.86cm) que presentaron un desarrollo normal.

3.4. Diámetro de Túbulos Seminíferos

3.4.1. Diámetro Mayor de los Túbulos Seminíferos

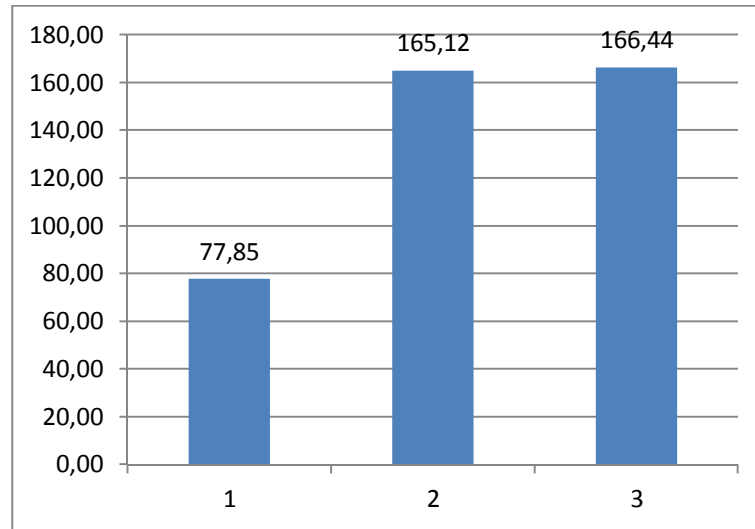
Tabla N° 33. Diámetro mayor (micrómetros)

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|-------|--------|--------|
| 1 | 66,31 | 168,08 | 156,32 |
| 2 | 83,93 | 170,98 | 189,95 |
| 3 | 76,57 | 153,93 | 153,71 |
| 4 | 76,87 | 176,84 | 167,23 |
| 5 | 85,56 | 155,79 | 164,98 |
| PROMEDIO | 77,85 | 165,12 | 166,44 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 13. Promedios de diámetro mayor (micrómetros)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 34. Adeva para diámetro mayor (micrómetros)

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------------|----|------------|-------|-----------|
| TRATAMIENTO | 2,9459E+10 | 2 | 1,4729E+10 | 50,96 | <0,0001 * |
| ERROR | 3468627758 | 12 | 289052313 | | |
| TOTAL | 3,2927E+10 | 14 | | | |
| CV% | 12,22 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 35. Prueba Duncan al 5%, para diámetro mayor (micrómetros)

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 77,85 | A |
| 2 | 165,12 | B |
| 3 | 166,44 | B |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Del diámetro mayor se puede observar en la tabla N° 33 y el gráfico N° 13 el t1 es el de mejor desarrollo con 77,85 µm. Al realizar el análisis estadístico reportado en la tabla 34, se observa que existen diferencias estadísticas para tratamientos, donde se obtuvo un valor de $p < 0,0001$, por lo que se realizó la prueba de Duncan al 5%, donde se puede ver que categóricamente el tratamiento t1 encabezó el primer rango.

Con lo que respecta al diámetro mayor de los túbulos seminíferos los resultados reportan una reducción notable en el caso de los IE (77,85 µm) debido directamente a la reducción de la concentración hormonal de FSH y al la reducción del volumen de las células de Sertoli y germinales, mientras que el caso EQ (165,12 µm) y T (166,44 µm) no presentaron variación alguna.

3.4.2. Diámetro Menor de los Túbulos Seminíferos

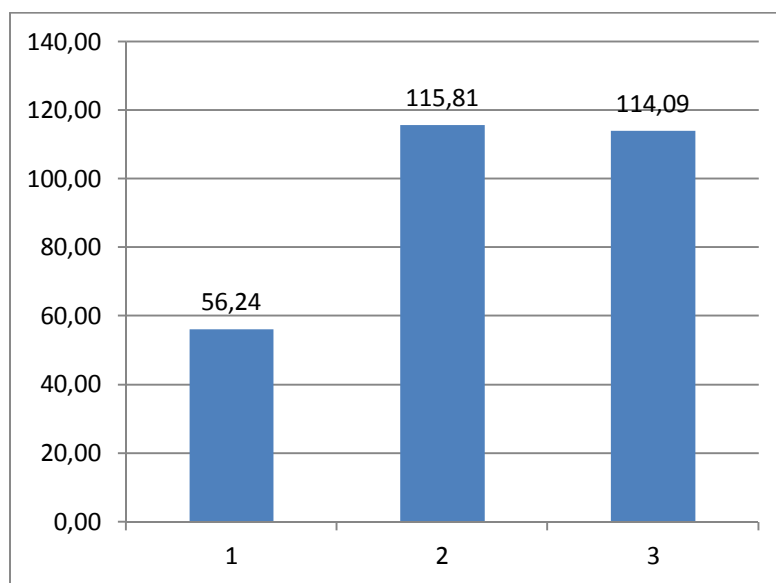
Tabla N° 36. Diámetro menor (micrómetros)

| Observaciones | IE | EQ | T |
|---------------|-------|--------|--------|
| | 46,74 | 114,84 | 112,84 |
| | 62,49 | 119,17 | 113,57 |
| | 51,86 | 113,84 | 107,34 |
| | 57,66 | 117,62 | 117,96 |
| | 62,47 | 113,59 | 118,75 |
| PROMEDIO | 56,24 | 115,81 | 114,09 |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Gráfico N° 14. Promedios de diámetro menor (micrómetros)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 37. Adeva para diámetro menor (micrómetros)

| F.V. | SC | GL | CM | F | Valor p |
|-------------|------------|----|------------|-------|-----------|
| TRATAMIENTO | 1,5559E+10 | 2 | 7779550359 | 64,38 | <0,0001 * |
| ERROR | 1450009743 | 12 | 120834145 | | |
| TOTAL | 1,7009E+10 | 14 | | | |
| CV% | 10,92 | | | | |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Tabla N° 38. Prueba Duncan al 5%, para diámetro menor (micrómetros)

| TRATAMIENTO | PROMEDIOS | RANGOS |
|-------------|-----------|--------|
| 1 | 56,24 | A |
| 2 | 115,81 | C |
| 3 | 114,09 | B |

Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Del diámetro menor se puede observar en la tabla N° 36 y el gráfico N° 14 el t1 es el de mejor desarrollo con 56,24 μm . Al realizar el análisis estadístico reportado en la tabla N° 37, se observa que existen diferencias estadísticas para tratamientos, donde se obtuvo un valor de $p < 0,0001$, por lo que se realizó la prueba de Duncan al 5%, donde se puede ver que categóricamente el tratamiento t1 encabezó el primer rango.

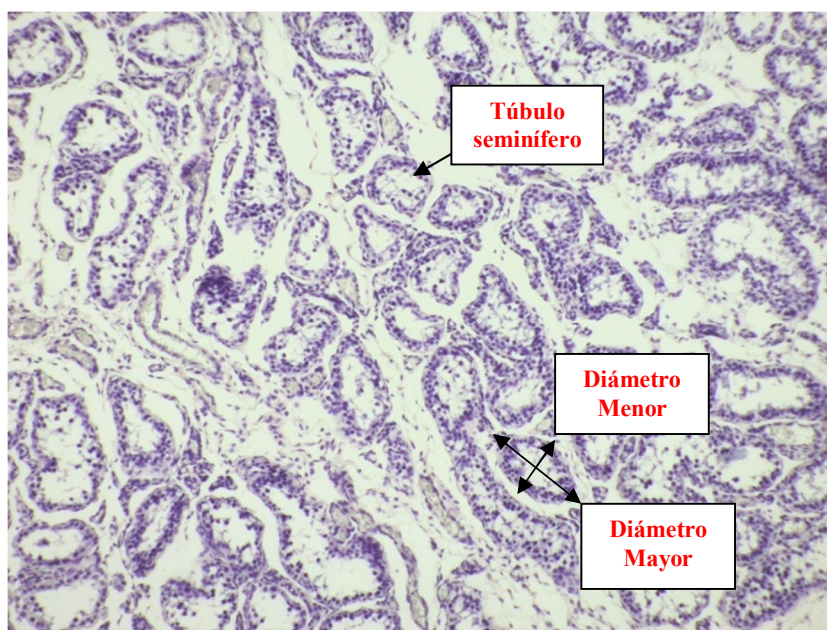
Con lo que respecta al diámetro menor de los túbulos seminíferos los resultados reportan una reducción notable en el caso de los IE (56,24 μm) debido directamente a la reducción de la concentración hormonal de FSH y al la reducción del volumen de las células de Sertoli y germinales, mientras que el caso EQ (115,81 μm) y T (114,09 μm) no presentaron variación alguna.

3.5. Estudio Histológico

3.5.1. Inmunoesterilizados

Se observó notorios cambios en sus estructuras especialmente en los túbulos seminíferos en los cuales se redujo su diámetro, disminución del volumen de las células de Sertoli, y ausencia de espermatogénesis.

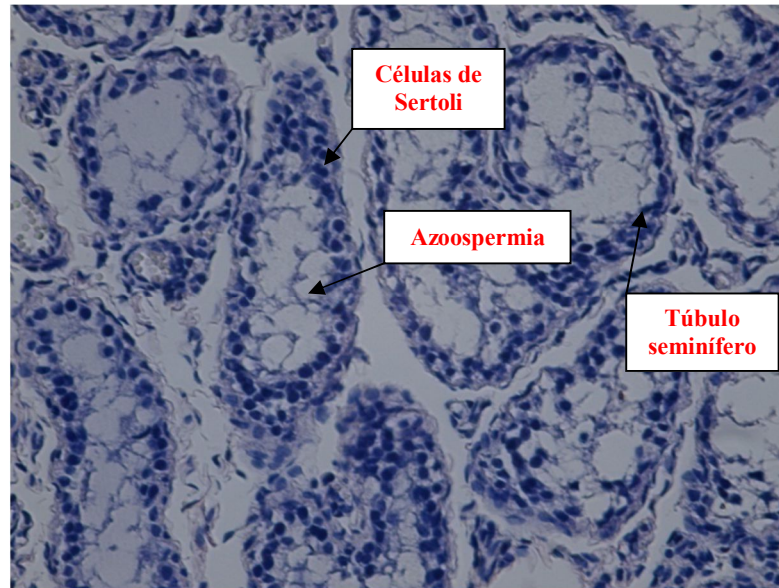
Imagen N° 7. Placa histológica Inmunoesterilizados (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Imagen N° 8. Placa histológica Inmunoesterilizados (40x)



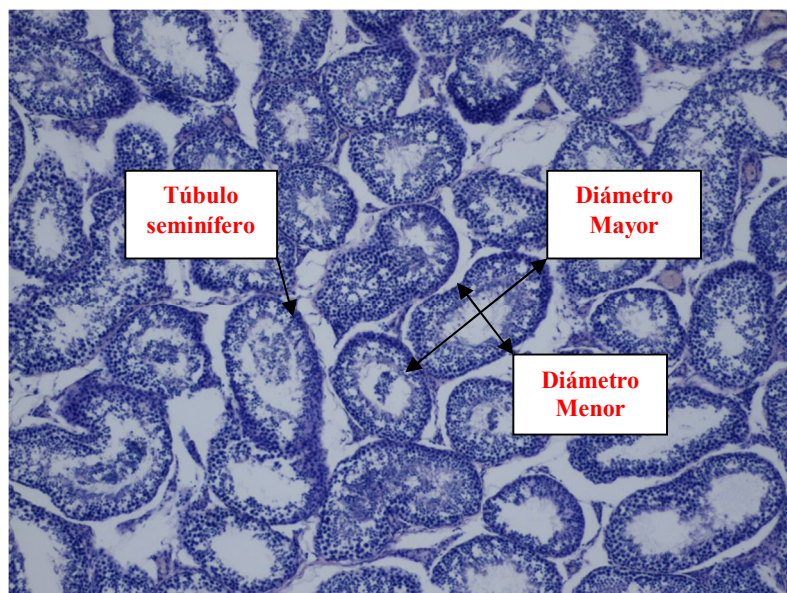
Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

3.5.2. Esterilizados Quirúrgicamente y Testigos

Las estructuras en ambos grupos son normales se observa normal a las células de Sertoli, células germinales y por ende una normal espermatogénesis.

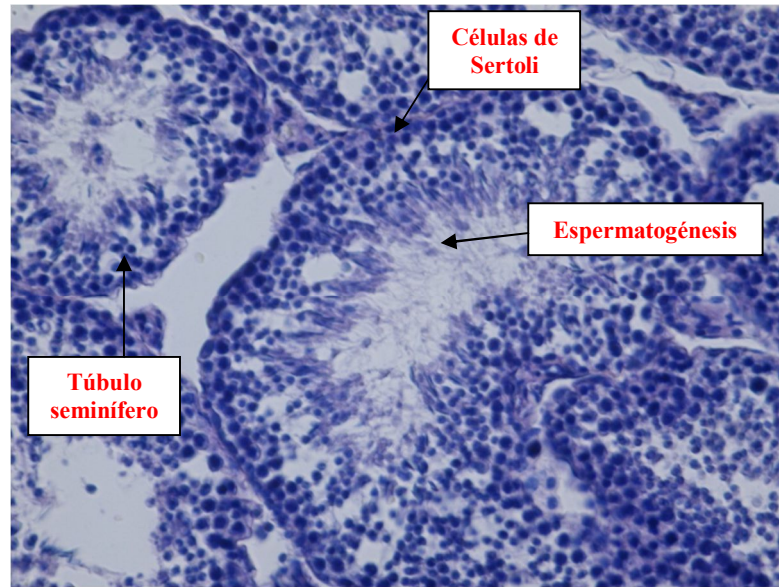
Imagen N° 9. Placa histológica Esterilizados Quirúrgicamente (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

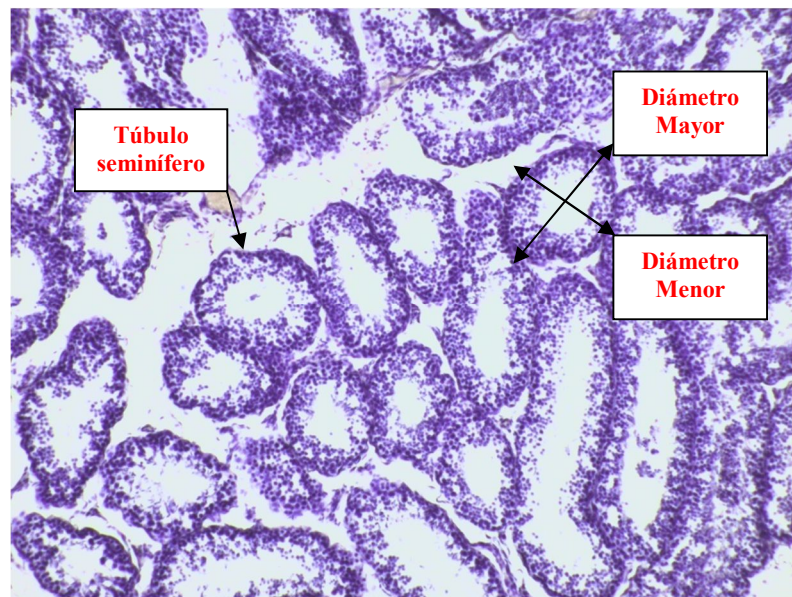
Imagen N° 10. Placa histológica Esterilizados Quirúrgicamente (40x)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

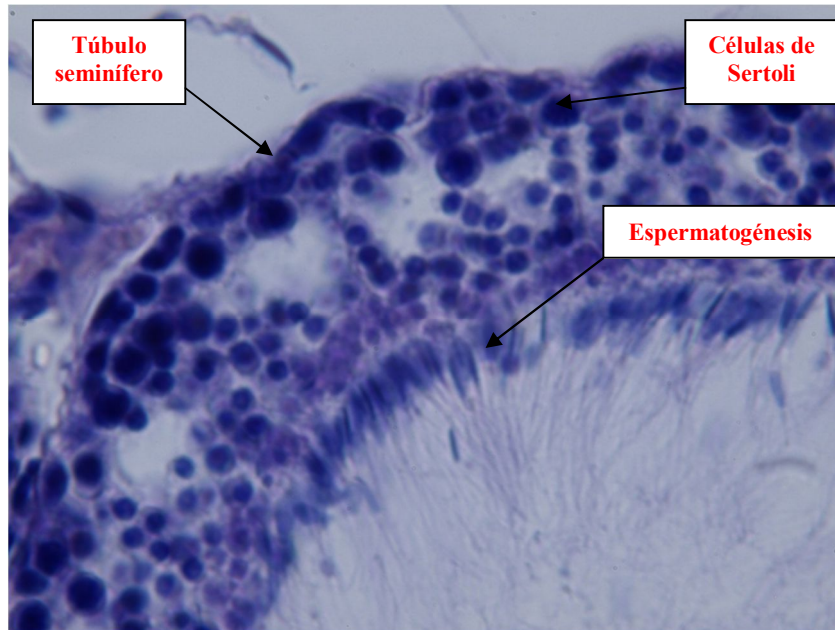
Imagen N° 11. Placa histológica Testigos (10x)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

Imagen N° 12. Placa histológica Testigos (100x)



Fuente: Directa

Elaborado por: CHULLI; Mario (2015)

La administración de lidocaína intratesticular en el grupo EQ no afectó en ninguna manera o produjo cambios a nivel histológico en ninguna de las estructuras del testículo.

CONCLUSIONES

- Bajo las condiciones de este estudio la administración de la vacuna anti-GnRH demostró ser una buena alternativa respecto a la castración quirúrgica tradicional, determinando que el conejo puede ser utilizado como modelo experimental válido para el estudio del efecto inhibitor del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal.
- Al analizar la concentración de las principales hormonas sexuales de los conejos machos inmunoesterilizados los niveles de testosterona (0.02 ng/ml) y LH (0.29 mUI/ml) disminuyeron respecto al grupo control que fueron de control Testosterona (2.53 ng/ml) y LH (0.37 mUI/ml) determinándose efectividad de la vacuna en esta especie.
- Microscópicamente se produjo diferencias destacables en las estructuras de los testículos evidenciando reducción en el diámetro de los túbulos seminíferos de los animales vacunados (diámetro mayor 77854,00 μm , diámetro menor 56322,00 μm) frente al grupo control (diámetro mayor 158442,76 μm , diámetro menor 113895,78 μm), y por lo tanto se evidenció la falta de espermatogénesis en los inmunoesterilizados.
- Macroscópicamente se produjo hipotrofia testicular muy notable entre los animales inmunoesterilizado (testículo izquierdo 2.10cm longitudinal, 0.98cm trasversal), (testículo derecho 2.32cm longitudinal, 1.08cm trasversal) frente a los testigos (testículo izquierdo 2.86cm longitudinal, 1.76cm trasversal), (testículo derecho 3.18cm longitudinal, 1.86cm trasversal) y esterilizados quirúrgicamente (testículo izquierdo 2.82cm longitudinal, 1.68cm trasversal), (testículo derecho 3.12cm longitudinal, 1.84cm trasversal).

RECOMENDACIONES

- Implementar la técnica de immunoesterilización para suprimir la capacidad reproductiva de los animales ya que no es invasiva y evita el estrés.
- Realizar estudios acerca de la viabilidad de la vacuna anti GnRH en hembras de otras especies.
- Continuar con el seguimiento de esta investigación y determinar si existe reversión de los resultados y si los animales vuelven a ser fértiles.
- Realizar estudios para crear una vacuna anti-GnRH propia bajo las condiciones de nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA

Libros:

- 1) **ASPINALL, Victoria y OREILLY, Melanie. 2007.** *Introducción a la Anatomía y Fisiología Veterinaria.* Madrid : Acribia S.A, 2007. ISBN.978-84-200-1091-5.
- 2) **BACHA, William y BACHA, Linda. 2001.** *Atlas de Histología Veterinaria.* Buenos Aires : Inter-Médica, 2001. ISBN. 85-7241-439-8.
- 3) **BAVARESCO, Aura. 2006.** *Las Técnicas de la Investigación: Manual para la elaboración de tesis, monografías, informes.* Maracaibo, 2006. ISBN. 980-232-623-2.
- 4) **BUNGE, Mario. 2008.** *La investigación Científica.* Barcelona España : Ariel, 2008.
- 5) **CUNNINGHAM, James. 2009.** *Fisiología Veterinaria.* México : Interamericana, 2001. ISBN. 968-25-1919-5.
- 6) **DELLMANN, Horst. 2004.** *Histología Veterinaria.* Madrid : Acribia, 2004. ISBN. 978-842-0007-55-7.
- 7) **DYCE, K, SACK, W y WENSING, C. 2012.** *Anatomía Veterinaria.* Buenos Aires : Manual Moderno, 2012. ISBN. 9786074481204.
- 8) **FAWCETT, W. 2001.** *Compendio de Histología.* Madrid : McGraw-Hill, 2001. ISBN. 84-486-0264-1.
- 9) **FLORES, Rafael. 2001.** *Investigación educativa y pedagógica.* Bogotá : McGraw Hill, 2001.
- 10) **FOSSUM, Theresa. 2008.** *Cirugía en Pequeños Animales.* Madrid : Elsevier, 2008. ISBN. 978-848-086-36-67.
- 11) **SALTIEL, Alberto. 2001.** *Reproducción de los Animales Domésticos .* México : Limusa, 2001. ISBN. 968-18-1954-4.
- 12) **GAZQUEZ, A y BLANCO, A. 2004.** *Tratado de Histología Veterinaria.* Barcelona : Masson, 2004. ISBN. 84-458-1413-3.
- 13) **GAZQUEZ, A y GOMEZ, L. 2009.** *Manual Práctico de Histología Veterinaria.* España : s.n., 2009. ISBN. 978-84-613-4050-7.

- 14) **HAFEZ, E. and HAFEZ, B. 2002.** *Reproduccion e Inseminacion Artificial en Animales.* Mexico DF : McGraw - Hill Interamericana, 2002. ISBN. 970-10-3719-7.
- 15) **JAUSET, Jordi. 2000.** *La investigacion de audiencias y fundamentos estadisticos.* Paidos España, 2000.
- 16) **KÖNIG, Horst and Liebich, Georg. 2005.** *Anatomía de los animales domésticos Tomo 2.* Buenos Aires : Panamericana, 2005. ISBN 84-790-374-82.
- 17) **LACAVE, Martin y SAN MARTIN, Victoria. 2005.** *Atlas Practico de Veterinaria.* Madrid : Diaz de Santos, 2005. ISBN. 978-8479-78-670-0.
- 18) **PANIAGUA, Ricardo. 2007.** *Citologia e Histologia Vegetal y Animal.* Madrid : McGRAW-HILL, 2007. ISBN. 978-84-481-5593-3.
- 19) **PIMIENTA, Julio. 2012.** *Metodologia de la Investigacion.* Mexico : Pearson, 2012. ISBN. 978-607-32-1027-0.
- 20) **POOPER, J. 2007.** *Logica de la investigacion cientifica.* Madrid : Tecnos, 2007.
- 21) **PTASZYNSKA, Mónica. 2007.** *Compendio de Reproducción Animal. Uruguay.* Uruguay : Intervet, 2007.
- 22) **RAYMOND, R y STANLEY, H. 2012.** *Atlas en Color de Anatomia Veterinaria.* Barcelona : Elsevier, 2012. ISBN. 978-84-8086-832-7.
- 23) **REDONDO, Eloy. 2007.** *Atlas práctico de histología veterinaria.* Madrid, 2007. ISBN. 978-8477237570.
- 24) **REECE, W. 2009.** *Fisiologia de los Animales Domesticos.* Madrid : Acribia S.A, 2009. ISBN. 788-42-0011-349.
- 25) **SHIVELY, J. 2003.** *Anatomía Veterinaria, Comparada y Clinica.* Mexico : El Manual Moderno S.A, 2003. ISBN. 89-096-202-2.
- 26) **SISSON, Septimus and GROSSMAN, James. 2001.** *Anatomia de los Animales Domesticos.* Barcelona : Masson, 2001. ISBN 84-458-0721-8.
- 27) **ZUNIÑO, Gonzalo. 2003.** *Nutrición y Alimentación de la Facultad de Veterinaria de la UBA.* Buenos Aires, 2003. ISBN. 9685475609213.

Internet:

- a) **COSMOS. 2012.** Microtomos para cortes en parafina. [Online] 07 19, 2012. [Cited: 02 02, 2015.]
- b) <http://www.cosmos.com.mx/producto/3d74/microtomos-para-cortes-en-parafina>.
- c) **DEL SOL, Mariano and VASQUEZ, Bélgica. 2001.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Estudio Morfológico de la Glándula Bulbouretral de Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [Online] 2001. [Cited: 11 29, 2014.] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682001000200015&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0716-9868..
- d) **FERNÁNDEZ, Néstor. 2014.** Infogranja. *Organos Genitales del Conejo*. [Online] 08 11, 2014. [Cited: 03 04, 2015.] http://www.infogranja.com.ar/del_macho1.htm.
- e) **GEOFFREY, Rolls. 2011.** Scientia. *Microtomía y preparación de la sección en parafina*. [Online] 10 29, 2011. [Cited: 03 09, 2015.] http://www.leicabiosystems.com/fileadmin/img_uploads/histology_systems/2010/Microtomy_booklet_spanish_online.pdf.
- f) **HISTOTECHNOOGY. 2010.** Tecnología Médica Mención Morfofisiopatología y Citodiagnóstico. [Online] 07 24, 2010. [Cited: 05 17, 2015.] <http://morfoudec.blogspot.com/2008/11/variables-penetracin-fijacin-segn.html>.
- g) **LEICA. 2012.** Precisión de corte: Vibratomo SeriesLeica. [Online] 11 12, 2012. [Cited: 03 07, 2015.] <http://www.leicabiosystems.com/es/eventos-y-educacion/noticias/detalles-de-las-noticias/article/cutting-edge-precision-leica-vibratome-series/>.
- h) **PARRA, Roxana, DEL SOL, Mariano. 2002.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Estudios Histológico e Histoquímico del Epidídimo de Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [Online] 2002. [Cited: 11 29, 2014.] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716986820020003000006&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0716-9868..

- i) **PFIZER. 2010.** Pfizer Animal Health Company. *INNOSURE®*. [Online] 2010. [Cited: 11 30, 2014.] <http://www.innosure.com.ec/sites/improvac/es-EC/Pages/technicalinformation.aspx>.
- j) **SCHENCKE, C, DEL SOL, M. 2003.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Morfología Del Conducto Deferente en el Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [Online] 2003. [Cited: 11 29, 2014.] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022003000100003&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0717-9502..
- k) **SPIEGEL, R. 2014.** Wikipedia. *Analisis de la Varianza*. [Online] Febrero 19, 2014. [Cited: Febrero 22, 2015.] http://es.wikipedia.org/wiki/An%C3%A1lisis_de_la_varianza.
- l) **VASQUEZ, Bélgica and DEL SOL, Mariano. 2002.** Scielo Revista Chilena de Anatomía. *Complejo Prostático en el Conejo (Oryctolagus cuniculus)*. [Online] 2002. [Cited: 11 29, 2014.] http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-98682002000200010&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0716-9868. .
- m) **VELASCO, Patricia. 2005.** *Técnicas de Esterilización en Pequeños Animales*. [Online] 2005. [Cited: 12 9, 2014.] http://www.uco.es/organiza/departamentos/anatomia-y-anatopatologica/peques/curso01_05/esteriliza1.pdf.
- n) **Universidad de Vigo. 2014.** Atlas de Histología Vegetal y Animal. [Online] 05 30, 2014. [Cited: 03 23, 2015.] <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/1-proceso.php>.
- o) **WIKILIBROS. 2015.** Fijadores Histológicos. [Online] 03 17, 2015. [Cited: 04 06, 2015.] https://es.wikibooks.org/wiki/Histolog%C3%ADa/Preparaci%C3%B3n_de_cortes_histol%C3%B3gicos.

ANEXOS



Fotografía 1: Identificación de los tratamientos



Fotografía 2: Extracción muestra sanguínea (Punción Cardiaca)



Fotografía 3: Rasurado de la zona de aplicación de la vacuna



Fotografía 4: Aplicación de la vacuna



Fotografía 5: Materiales de desinfección, jeringas, tubos para recolección de muestras.



Fotografía 6: Visita del tribunal de tesis



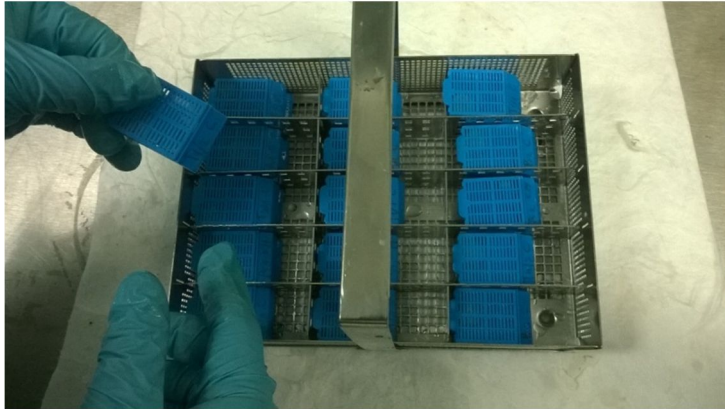
Fotografía 7: Proceso de castración



Fotografía 8: Medición longitudinal de testículo



Fotografía 9: Medición Transversal de testículo



Fotografía 10: Muestras de tejido en los cassetts de histopatología



Fotografía 11: Histoprocador de tejidos automático



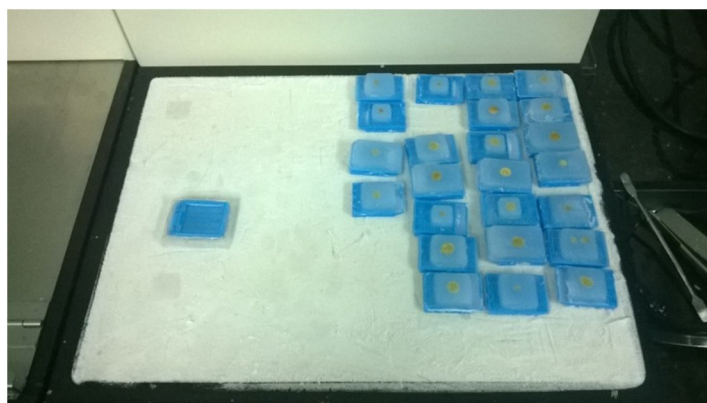
Fotografía 12: Colocación de las muestras de tejido en el Histoprocador



Fotografía 13: Programa para el proceso de inclusión de parafina a nivel celular



Fotografía 14: Inclusión en parafina liquida



Fotografía 15: Bloques de parafina conteniendo las muestras de tejido



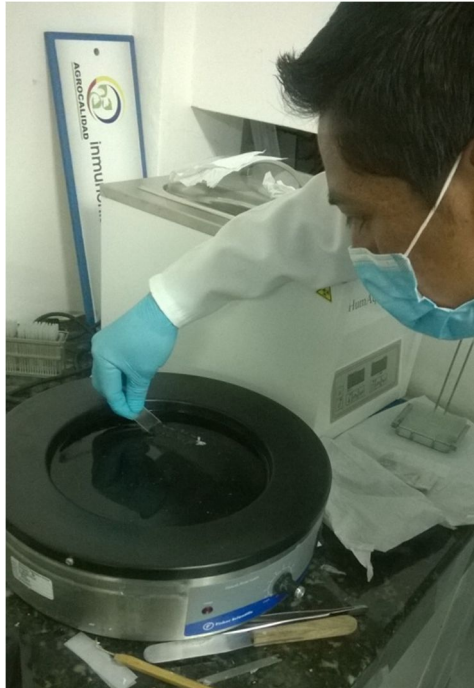
Fotografía 16: Maquinas para el proceso de inclusión en parafina y formación de los bloques



Fotografía 17: Micrótopo de corte para bloques de parafina



Fotografía 18: Corte y obtención de muestra de tejido



Fotografía 19: Recolección de la muestra en el portaobjetos



Fotografía 20: Maquina para el proceso de desparafinado, hidratación y tinción



Fotografía 21: Lavado de las placas



Fotografía 22: Reactivos para el proceso de deshidratación y aclaración final



Fotografía 23: Pegado de cubreobjetos

Exámenes Hormonales



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8066
Nombre: IE1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,34 mUI/mL

FSH: 0.08 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,065 ng/mL

CORTISOL: 0,16 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8067
Nombre: IE2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,087 ng/mL

CORTISOL: 0,17 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia





LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8068
Nombre: IE3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,34 mUI/mL

FSH: 0,08 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,076 ng/mL

CORTISOL: 0,16 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia





LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8069
Nombre: IE4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:27:37

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,29 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,109 ng/mL

CORTISOL: 0,16 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:27:37



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8070
Nombre: IES
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:27:37

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,34 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,085 ng/mL

CORTISOL: 0,16 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:27:37



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8043
Nombre: EQ 1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,30 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,088 ng/mL

CORTISOL: 0,34 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia





LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Morúa y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8044
Nombre: EQ 2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:08:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,31 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,077 ng/mL

CORTISOL: 0,33 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia





LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Bolívar Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8045
Nombre: EQ 3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,31 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,102 ng/mL

CORTISOL: 0,32 ng/mL

Método: Electroquimioluminiscencia

LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS
DR. FERNANDO ALAY GARCIA
LABORATORIO CLINICO
MARQUÉS DE MAENZA Y BOLÍVAR QUEVEDO
C.A. 20050001
R.O.C. 20050001
Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Bolívar Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8046
Nombre: EQ 4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,092 ng/mL

CORTISOL: 0,31 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0988543944
Marqués de Maerza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8047
Nombre: EQ 5
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,076 ng/mL

CORTISOL: 0,32 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belsario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8061
Nombre: T1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,30 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,079 ng/mL

CORTISOL: 0,39 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8062
Nombre: T2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,33 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,083 ng/mL

CORTISOL: 0,36 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todo los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8063
Nombre: T3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,34 mUI/mL

FSH: 0,10 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,076 ng/mL

CORTISOL: 0,31 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación/27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0988543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8064
Nombre: T4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,09 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,081 ng/mL

CORTISOL: 0,33 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8065
Nombre: T5
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,30 mUI/mL

FSH: 0,08 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,077 ng/mL

CORTISOL: 0,36 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8066
Nombre: IE1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,05 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,01 ng/mL

CORTISOL: 1,12 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Bellisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8067
Nombre: IE2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,30 mUI/mL

FSH: 0,06 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,01 ng/mL

CORTISOL: 1,24 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia





LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8068
Nombre: IE3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,29 mUI/mL

FSH: 0,06 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 1,90 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8069
Nombre: IE4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:27:37

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,22 mUI/mL

FSH: 0,05 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 0,98 ng/mL

Método: Electroquimioluminiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:27:37



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8070
Nombre: IE5
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:27:37

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,32 mUI/mL

FSH: 0,04 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 1,02 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:27:37



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Meenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8043
Nombre: EQ 1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,29 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,03 ng/mL

CORTISOL: 3,12 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543044
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8044
Nombre: EQ 2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,28 mUI/mL

FSH: 0,05 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,03 ng/mL

CORTISOL: 3,24 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8045
Nombre: EQ 3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,29 mUI/mL

FSH: 0,05 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 2,90 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia

LABSAG
FERNANDO ALAY GARCIA
LABORATORIOS CLINICOS
CALLE MAENZA Y BELISARIO QUEVEDO
C.A. 10.000.20 No. 58
Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8046
Nombre: EQ 4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,30 mUI/mL

FSH: 0,07 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 2,97 ng/mL

Método: Electroquimioluminiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Meerza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8047
Nombre: EQ 5
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 10:53:00 Impresión: 27/04/2015 14:06:40

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,28 mUI/mL

FSH: 0,06 mUI/mL

TESTOSTERONA: 0,02 ng/mL

CORTISOL: 3,02 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 14:06:40



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belsario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8061
Nombre: T1
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,37 mUI/mL

FSH: 0,11 mUI/mL

TESTOSTERONA: 2,96 ng/mL

CORTISOL: 0,92 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf. (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8062
Nombre: T2
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,37 mUI/mL

FSH: 0,11 mUI/mL

TESTOSTERONA: 2,40 ng/mL

CORTISOL: 0,78 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay Garcia

Orden No.: 8063
Nombre: T3
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,38 mUI/mL

FSH: 0,12 mUI/mL

TESTOSTERONA: 2,13 ng/mL

CORTISOL: 0,49 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLINICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8064
Nombre: T4
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,37 mUI/mL

FSH: 0,12 mUI/mL

TESTOSTERONA: 2,63 ng/mL

CORTISOL: 0,50 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44



LABSAG
LABORATORIOS CLÍNICOS



INFORME DE RESULTADOS

Atención las 24 horas
Todos los días del Año
Servicio a Domicilio

R11P8 Revisión 01
Telf: (032) 801 - 343 / 0998543944
Marqués de Maenza y Belisario Quevedo

DR. Fernando Alay García

Orden No.: 8065
Nombre: T5
Edad:

Médico: DR.
Procedencia: UTC

Ingreso: 27/04/2015 15:14:00 Impresión: 27/04/2015 15:15:44

www.laboratorioclinico-labsag.com

HORMONAS

LH: 0,35 mUI/mL

FSH: 0,12 mUI/mL

TESTOSTERONA: 2,53 ng/mL

CORTISOL: 0,57 ng/mL

Método: Electroquimiolumiscencia



Fecha validación: 27/04/2015 15:15:44