

79 29



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

## COMPARACION DEL EFECTO DE INMUNIZACION CON TEJIDO TESTICULAR Y PLASMA SEMINAL SOBRE LA FERTILIDAD EN PERROS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
JOSE SANTAMARIA RAMOS

DIRECTOR DE TESIS: M.V.Z. PABLO MARTINEZ LABAT

1990

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO.

RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	3
OBJETIVOS .....	12
MATERIALES Y METODOS .....	15
RESULTADOS .....	16
CUADROS Y GRAFICAS .....	16
ANALISIS ESTADISTICO .....	30
DISCUSION .....	31
CONCLUSIONES .....	34
BIBLIOGRAFIA .....	35

## RESUMEN.

Con el propósito de inducir una respuesta inmunológica que provocara la infertilidad en perros machos por inoculación de diversos productos biológicos en este caso semen y tejido testicular. Se trabajó con tres grupos de perros, el grupo A formado por dos perros, el grupo B formado por tres perros y el grupo C formado por dos perros. El grupo A fue inoculado con un extracto de tejido testicular, el grupo B fue inoculado con antígeno de plasma seminal y el grupo C se usó como control. Se les inocularon 5 miligramos de proteína del antígeno el día 1 con adyuvante completo de Freud al igual que el día 15, el día 30 se les inoculó con --- adyuvante incompleto de Freud y los días 31 y 32 se les inoculó el antígeno en solución. Los efectos se evaluaron por examen general del semen cada 8 días y antes de la inmunización que se colectó semen de cada perro por el método de masturbación. Las pruebas fueron motilidad, color, volumen, concentración espermática, espermatozoides normales y anomalías primarias y secundarias. Fueron medidas las dimensiones testiculares y consistencia epididimal y testicular. Los resultados arrojados en la concentración espermática, así como en el volumen del eyaculado fueron variables esto confirma que el efecto del estrés y el método de obtención de semen afectan su producción. El porcentaje de anomalías primarias y secundarias así como el porcentaje de espermatozoides normales no se vio afectado considerablemente. En las dimensiones, color y consistencia testicular y epididimal fue mínima la variación, sin embargo esto indica que sí hubo una respuesta hacia los antígenos de semen y tejido testicular, aunque no lo suficiente para manifestarse en las pruebas de examen general del semen.

Este método de esterilización por inmunización de tejido testicular  
o semen no resulto eficaz.

En los últimos años se ha incrementado notablemente la población canina en el área metropolitana y el Distrito Federal.

Se quiere tomar mayor importancia al perro callejero,-- definiendo a este como el que pasa la mayor parte de su vida en la calle aunque algunos tengan amo, que son la mayor parte. Ya -- que el descuido de estos ocasiona una serie de problemas, desde -- sus desechos hasta algunas enfermedades que pueden transmitir al -- hombre. (Fuentes, 1981).

Considerando que en promedio un perro deja 200 grs. de -- materia fecal y 500 ml de orina por día, y si la población canina -- esta estimada en alrededor de 2 753 299 perros, pero solo el --- 17.56 % están la mayor parte del día en la vía pública, por lo que -- el cálculo de materia fecal en la vía pública sería de 96 695.86 kg -- en un día, en el área metropolitana. (Fuentes, 1981).

Estudios realizados por Fuentes (1981) en la zona metro- -- politana, indican que por cada seis personas hay un perro, en --- -- cuanto a la distribución de población humana, en relación al núme -- ro de personas que fueron sometidas a tratamiento antirrábico y -- de las que sufrieron agresión canina, durante los años 1973-1978 -- corresponden a las siguientes cifras: De 2 879 hogares encuesta -- dos, fueron detectados 22 170 habitantes con un 6.31 % de personas -- que han sido mordidas por perros en promedio y 3.8 % de personas -- que han sido vacunadas en promedio.

Este problema se origina en la falta de vacunación del perro, algunos datos indican que pese a esto son vacunados casi - el 100 % pero solo el 30.10 % presentaron comprobante y el resto no, asegura haber vacunado a sus perros. (Fuentes, 1981). El 83.3 % de los casos de rabia corresponden al medio urbano y -- sólo el 16.7 % al medio rural. (Payro, 1981).

De ahí la importancia de controlar a la población canina en el área metropolitana. Ya que aunque en muchos de los casos de rabia humana los animales salvajes son el origen, pero los perros son los más frecuentes responsables. (Payro, 1981).

Estadísticamente, la población canina esta compuesta -- por un 61.05 % de perros criollos, que son los más discriminados no contando con atención veterinaria no teniendo una alimentación adecuada ya que el 51.29 % son alimentados con desperdicios de comida. (Fuentes, 1981).

Ahora bien, ya que la perra es una hembra multipara y - políptica, y presenta dos celos al año en su mayoría y la edad para reproducirse es en promedio de siete meses, (McDonald, 1970). Si a esto agregamos que la proporción macho-hembra es de 2:1, con esto asegura en su mayor parte la reproducción de las hembras. (Fuentes, 1981).

En cuanto a los machos ya que son precoces y por los da tos estadísticos se encuentra que duplican en número a las hembras por lo que la aplicación de algunos sistemas de control reproduc

tivo serían aplicables a estos. Existiendo varios métodos de esterilización. Los más comunes son los métodos quirúrgicos, pero por su costo no son tan accesibles, ya sea orquitectomía o vasectomía. Además de los posibles riesgos que se pueden presentar, muerte en anestesia o en el postoperatorio. (Roa, 1986). En cuanto a los métodos químicos; con inyecciones de formaldehído en la cola del epidídimo, esta ofrece con una sola aplicación un mayor margen de seguridad, en cuanto a la esterilización. Quizas por su poca difusión no ha tenido mucha aplicación.

(Díaz y col, 1981).

La furazolidona, un producto utilizado regularmente para el combate de algunas enfermedades, fue evaluada en gallos hasta las quince semanas de edad estas aves recibieron dicho fármaco en la ración a diferentes concentraciones, encontrándose en cada animal un peso testicular y cuenta celular promedio inversamente proporcional a la concentración de furazolidona. Por lo que los furanos producen una disminución en la espermatogénesis. En síntesis en gallos y en general en aves no debe usarse en forma no controlada este fármaco sobre todo aquellos que estan destinados a la reproducción y en perros esto podría aplicarse para el control reproductivo en machos ya que no se ha notado algún cambio aparente, en ratas los furanos producen aspermia durante varias semanas y en el hombre en dosis terapéuticas carece de efecto sobre la espermatogénesis; las dosis mayores que la afectarían podrían producir efectos secundarios intolerables.

(Zermeño y Pausen, 1984).



El uso de sales de cadmio, por vía subcutánea, como sustituto de la orquiectomía como medida para el control de la fertilidad canina parece ser efectiva ya que su tiempo de acción es -- relativamente corto y además seguro sin embargo no se mencionan - pruebas de fertilidad pero si el daño tisular al testículo que es total en algunos casos. (Segoviano y Carrilló, 1975). Las sales - de cadmio destruyen los túbulos seminíferos y lesionan las células de Leydig en ratas y otros animales de laboratorio. (Hafez, 1985). Las células de Leydig se regeneran pero el epitelio espermatogénico es destruido. (McDonald, 1971).

La fertilidad fue disminuida al utilizar el clorhexidina y dimetilsulfóxido (comercialmente diacetato de clorhexidina, --- Nolvasan, Hibitano) usado como desinfectante y el DMSO (DOMOSO) sulfóxido de dimetilo que es un derivado sintético del ácido salicílico, el cual se usa como revulsivo o contrairritante tópico. Estos dos compuestos proporcionan efectos irritantes, analgésicos y antisépticos, capaces de producir esclerosis del tejido testicular, trabajos hechos en perros inoculados con estas dos sustancias por vía intraepididimal, se notaron cambios a los 7 días postinoculación una oligospermia, a los 15 días azoospermia en un 33.33% de los perros y a los 50 días en el 100% de los perros. (Sosa, 1984).

El uso del cloropropanodiol puede causar una infertilidad en machos ya que es un análogo del glicerol que interfiere con la síntesis de glicerilfosforilcolina en el epididímo, que desempeña una parte importante en la maduración y viabilidad de los espermatozoides. (Bowman, 1984).

La paroxipropina es un inhibidor de la liberación de gonadotropinas por lo tanto de la espermatogenesis en animales de experimentación. Se ha propuesto emplear un andrógeno para compensar la -- reducción de testosterona andógena ( y reforzar la inhibición de FSH ). Los ensayos preliminares sugieren que una combinación de etinilestradiol y metiltestosterona es eficaz y no tiene efectos secundarios, pero se necesita un tratamiento durante dos a tres meses antes que comience la aspermia. (Bowman, 1984).

Ahora bien, los métodos inmunológicos, aunque no se han usado en perros podrían ser un método económico y efectivo. Los trabajos realizados a la fecha son referentes a inmunización con plasma seminal y semen o tejido testicular se originan con; la autoinmunización de cobayos con esperma, realizadas por Metchnikoff en 1900, siendo uno de los primeros experimentos de autoinmunización. (Barrett, 1972).

Henle y col. investigaron sobre espermatozoides de mamíferos, encontraron un antígeno termoestable común a las cabezas y cola de los espermatozoides, siendo este antígeno específico de especie. (Boyd, 1970). Estos antígenos son comunes a los espermatozoides ya sea que se encuentren en la red de testis o en cualquier porción del epidídimo. (Brooks, y Tiver, 1984).

Algunos trabajos confirman la existencia de dos antígenos en los espermatozoides y siete en el plasma seminal, Henle y col. con el empleo de diferentes sueros y Menge con el estudio del semen de conejo, y trabajo inmunizando bovinos y cobayos contra espermatozoides de conejo, se obtiene el suero de estos y el semen

es tratado con este suero resultando una total inhibición de la fertilización en conejos inseminados cuando se usa el semen tratado con estos sueros. (Menge, 1967).

Cuasnicú et al., (1984) inseminaron ratas con semen tratado con suero contra proteínas de secreciones epididimales y la fertilización fue reducida de un 41.6% a un 6.0%, esto reafirma que actúan estos anticuerpos sobre estructuras vitales de los espermatozoides para el proceso de fertilización.

En vacas Holstein repetidoras en las que se consideraba como posible causa de infertilidad se estudio la presencia en el fluido vaginal de anticuerpos antiespermatozoides. En el 32% de vacas repetidoras estudiadas se encontraron títulos de anticuerpos mayores de 1: 8 y por medio de la prueba de inmunofluorescencia indirecta. Ahora bien en el grupo testigo formado por vacas no repetidoras y becerras vírgenes los títulos fueron menores a 1: 8 o no se detectaron estos anticuerpos. Fueron inseminadas 42 vacas repetidoras Holstein con semen Brahman y quedaron gestantes en la primera inseminación 50 vacas, en el grupo testigo se inseminaron 37 vacas repetidoras con semen de toro Holstein y solo 7 quedaron gestantes. Esto sugiere cierta incompatibilidad de tipo inmunológico. ( Calderón et al., 1980).

La inmunización de vaquillas con semen o tejido testicular más un adyuvante puede crear cierta infertilidad ya que se encontro un aumento en los servicios por concepción en estas vaquillas . (Menge, 1967).

Al respecto se menciona que hay varias condiciones que favorecen la respuesta inmunológica humoral contra los espermatozoides; la isoimmunización que se presenta al inseminar vacas recién paridas y que por lo tanto no presentan aún la involución uterina, la inseminación de vacas cuando presentan metrorragias, el inseminar vacas cuando sufren endometritis latente crónica. (Calderón et al., 1980). También Aitken, (1980), comprobó que pueden crearse anticuerpos antizona pelucida que igualmente interfieren en la fertilización por parte del espermatozoide. (Aitken et al., 1981).

Algunos factores dentro de la inseminación artificial - que hacen que el espermatozoide sea más antigénico y por ende - haya una respuesta inmunológica más fácil. Es la utilización de - diluentes de semen que son altamente antigénicos, como la yema de huevo o la leche, la yema de huevo le forma una configuración antigénica a los espermatozoides. (Calderón et al., 1980)

En humanos se han reportado casos de infertilidad atribuibles a trastornos inmunológicos, de una u otra forma se puso - en contacto células espermáticas con el sistema inmune, causando una producción de anticuerpos, que aglutinan a los espermatozoides con esto inmovilizándolos y que pierdan su capacidad para fecundar. (Fjällbrant, 1967).

Sobre la fertilización in vitro y la producción de anticuerpos contra los espermatozoides de hamster, estos anticuerpos actúan sobre la cabeza y la cola del espermatozoide impidiendo la unión de este con el ovulo a nivel de la zona pelucida, encuentran

dose también dos anticuerpos contra la cabeza y uno contra la cola del espermatozoide. (Moore y Hartman, 1984).

Se ha demostrado que mediante la transferencia de linfocitos de ratas previamente inmunizadas con espermatozoides a otras ratas, se origina una significativa reducción en la fertilidad. (Tinnenberg, 1980). También se ha encontrado en la autoinmunogenética una forma de inducir esterilidad, Docher y col. (1981), confirman esto en su trabajo con la transferencia de una mutación recesiva del complejo T/t ( gen recesivo obtenido por consanguinidad de una línea de ratones ), causando una orquitis y por ende una esterilidad en ratones machos. (Docher, 1981).

El uso de aloantígenos en hembras, en este caso ratones inoculados por vía subcutánea con espermatozoides alogénicos ocasiona una mayor respuesta de células inmunes mediadoras que hacen reacción con los espermatozoides disminuyendo la fertilidad en estas. (Rutherford, 1984).

Las alteraciones inmunitarias del sistema reproductor del macho son autoinmunitarias, ya que los machos no están expuestos a gametos histoincompatibles durante la reproducción. Por lo tanto experimentalmente, la autoinmunización o la aloinmunización a los espermatozoides puede causar una esterilidad en el macho y en la hembra. Durante el desarrollo fetal algunos tejidos son sequestrados en cierta forma, es decir no son vascularizados por lo que no son reconocidos por el sistema inmune, en cuanto entran en contacto son reconocidos como extraños o no propios.

Considerando que el plasma seminal contiene varias sustancias potencialmente antigénicas, principalmente enzimas, proteínas enzimáticas y sustancias no protéicas. También encontramos varias sustancias inmunoinhibidoras de importancia potencial. Uno de estos compuestos tiene efectos inmunosupresores de amplio espectro sobre la función de los linfocitos T in vitro y aunque aún faltan las pruebas directas de su efecto inmunosupresor in vivo. Por lo que sería conveniente una inmunización con tejido testicular y no con plasma seminal o semen, solo que el tejido testicular incluye varios antígenos. (Stites y col., 1980).

La existencia de esta serie de estudios con respecto a la utilidad potencial de usar líquidos o tejidos del aparato reproductor como material para inducir una respuesta que reduzca la fertilidad en los animales a los que se inocule es la que originó la inquietud para desarrollar el presente trabajo.

**OBJETIVOS.**

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la utili  
zación de algunos productos biológicos ( semen y tejido  
testicular ) por inoculación para inducir infertilidad  
en los canideos.

**MATERIALES Y METODOS.**

El presente trabajo se llevo a cabo en las instalaciones de la Liga Defensora de los Animales, ubicada en Lago Saima número 78 Colonia Tacuba. Los animales permanecieron aquí doce semanas y en las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán solo se realizarón las pruebas de las muestras de semen.

Se escogieron siete perros machos mestizos, agrupandose de acuerdo a edad, alzada y peso. La edad fluctuaba entre uno a ocho años, la alzada entre 40 cms. a 65 cms. y el peso de 7 a 20 kgs. El grupo A formado por dos perros, el grupo B formado por tres perros y el grupo C formado por dos perros. Los perros fueron donados por la Liga Defensora de los Animales.

Los perros se identificaron con un número colocado en una correa al cuello. Los perros en un inicio estuvieron en jaulas separadas con unas dimensiones aproximadamente; la parte descubierta de 3 mts por 3 mts y la parte cubierta 2 mts por 3 mts. Posteriormente fueron llevados a una jaula todos juntos con las siguientes medidas la parte cubierta 5 mts por 2 mts y la descubierta 5 mts por 5 mts. Se les suministro alimento una vez al día, el alimento consistía en vísceras y arroz aproximadamente 20 kgs dividido en dos tinas amplias de las cuales comían todos los perros. Se les mantuvo bajo las mismas condiciones de alojamiento, sanidad y régimen alimenticio durante todo el período de experimentación.



Obtención del Inmunógeno.

**Tejido Testicular** - se obtuvieron los testículos de un perro adulto mestizo junto con epidídimo, se mantuvieron en formol al 10 % por 24 hrs. en trozos pequeños para su fijación. (Alexander, 1986) Posteriormente fueron homogeneizados con solución salina fisiológica, se le agregó 10 000 UI/ ml de Penicilina y 10 mg/ ml de estreptomocina y se congelo hasta su uso.

**Plasma Seminal** - se obtuvo de varios eyaculados de diversos perros adultos los cuales se fueron centrifugando a 3 500 rpm durante 15 minutos separandose el sedimento y almacenandose previa adición de 10 000 UI/ ml de Penicilina y 10 mg/ ml de estreptomocina conservandose a - 20°C hasta su uso, en congelación.

Ya obtenidos los dos antígenos se determino la concentración de proteína por el método de Biuret. Se hicieron soluciones de 5 miligramos por un mililitro. Se les aplico de cada inmunógeno un mililitro por vía intramuscular, el protocolo de inoculación fue el siguiente: (Morilla y Bautista, 1986).

PERRO	GRUPO	ANTIGENO	ALZADA	Nº Y JAULA
1	A	Tejido Testicular	40 cm	148 32
2	A	Tejido Testicular	56 cm	272 31
3	C	Control	52 cm	293 29
4	C	Control	56 cm	40 34
5	B	Plasma Seminal	50 cm	286 24
6	B	Plasma Seminal	62 cm	233 19
7	B	Plasma Seminal	50 cm	428 34

Las fechas de inoculación y material inoculado quedaron distribuidos de la siguiente forma:

Nº. y Fecha de Inmunización	Día	Inmunógeno y Adyuvante 1:1.
1 26-enero-89	0	Antígeno y Adyuvante Completo Freud
2 10-febrero	15	Antígeno y Adyuvante Completo Freud
3 25-febrero	30	Antígeno y Adyuvante Incompleto Freud
4 26-febrero	31	Antígeno en solución.
5 27-febrero	32	Antígeno en solución.

(Castro, 1983).

Cada ocho días y antes de la inmunización inicial se colectó semen de cada perro por el método de masturbación descrito por (Horst y Joachim, 1981). Fueron evaluados de acuerdo al examen general que fue realizado; la prueba de motilidad, color y volumen. Las pruebas de concentración espermática, porcentaje de espermatozoides normales, anomalías primarias y secundarias fueron evaluadas en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. (Stephen, 1981; Zemjanis, 1981).

Las dimensiones testiculares de cada perro fueron medidas dos veces por semana, con una cinta métrica, así mismo se evaluó la consistencia de testículo y epidídimo por palpación. La zona de inoculación fue observada, en cuanto a consistencia y cambios macroscópicos.

Finalmente los datos obtenidos después de las observaciones se agruparon y se presentaron en forma de gráficas y cuadros, y se analizaron por el método de análisis de Bloques. (Daniel, 1988).

## RESULTADOS.

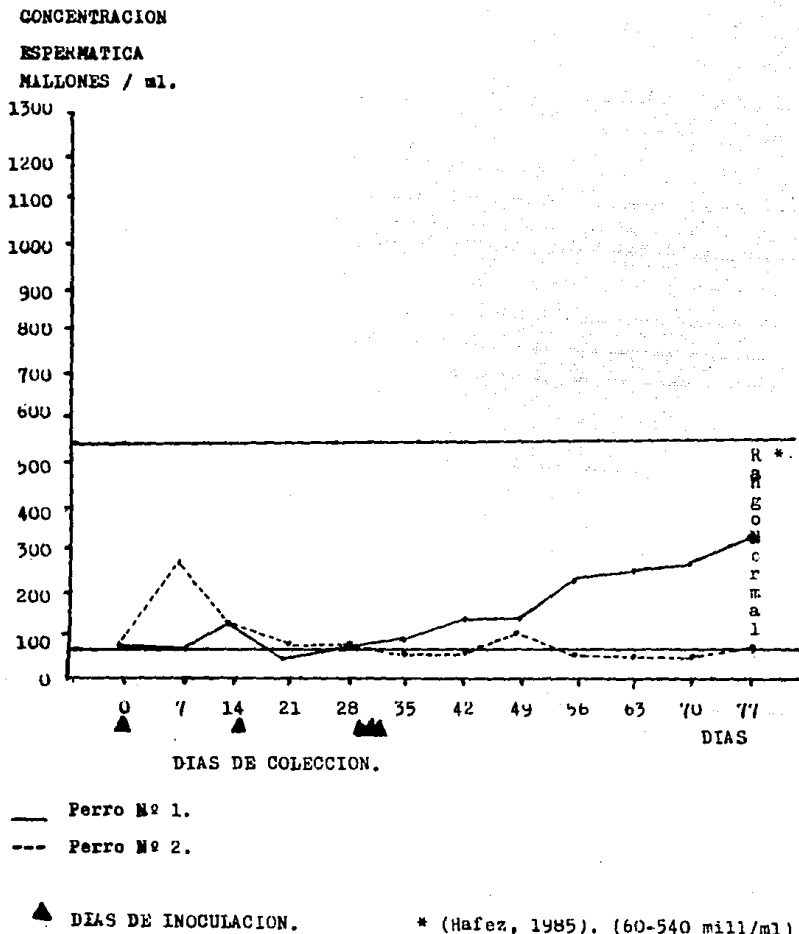
Las pruebas de fertilidad evaluadas correspondientes a los perros inoculados con tejido testicular y plasma seminal no mostrarán cambios significativos. Los valores obtenidos y día de colección aparecen en los cuadros siguientes. Las pruebas evaluadas son; apariencia del eyaculado, concentración espermática, motilidad individual, volumen, porcentaje de normales y anomalías primarias y secundarias.

CUADRO 1.

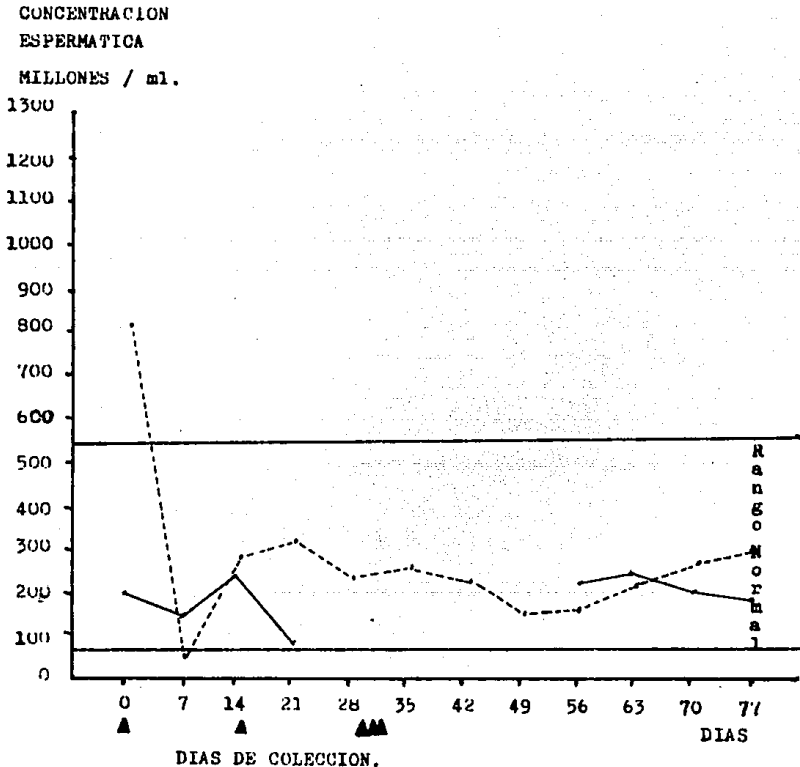
CONCENTRACION ESPERMATICA EN MILLONES. (ml).

DIA DE COLECCION INOCULADO	PERRO N°						
	<u>1A</u>	<u>2A</u>	<u>3C</u>	<u>4C</u>	<u>5B</u>	<u>6B</u>	<u>7B</u>
	Tejido Test.		Control		Plasma seminal		
0	90	80	190	800	240	90	10
7	80	270	140	30	240	160	80
14	130	110	240	270	150	120	80
21	60	60	90	300	140	110	80
28	70	60	*	230	1200	100	80
35	90	50	*	260	1270	150	90
42	150	50	*	240	120	300	290
49	160	90	*	150	600	370	360
56	230	60	240	160	860	260	240
63	170	50	250	260	200	180	1010
70	190	60	220	300	*	120	140
77	360	70	190	310	340	100	60
$\bar{X}$	148.33	64.16	195	275.83	487.27	284.16	216

Resultados de Concentración Espermática del grupo inoculados con Tejido Testicular, perros Nº 1 y 2.



Resultados de Concentración Espermiática del grupo Control, perros Nº 3 y 4.



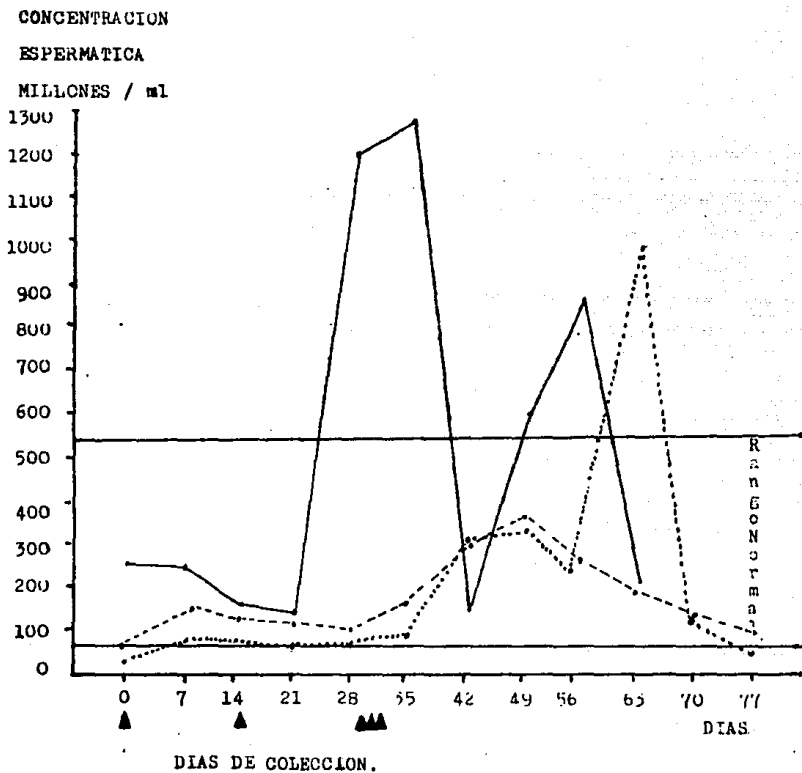
— Perro Nº 3.

--- Perro Nº 4.

NOTA: Los valores que no aparecen corresponden a días en los que los animales trabajados no se pudo obtener muestra.

▲ DIAS DE INOCULACION.

Resultados de Concentración Espermática del grupo inoculado con Plasma Seminal, perros Nº 5, 6 y 7.



NOTA: Los valores que no aparecen corresponden a días en los que los animales trabajados no se pudo obtener muestra.

▲ DIAS DE INOCULACION.

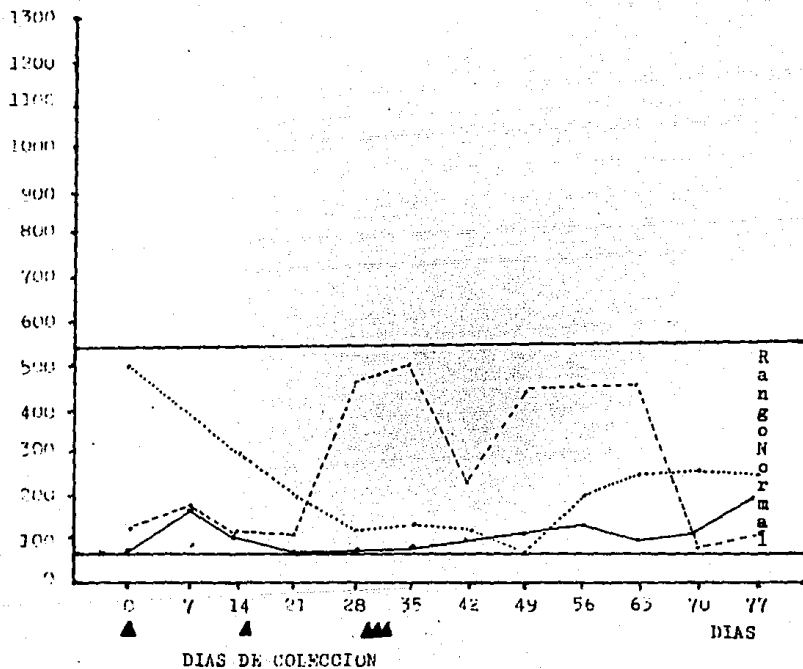
Gráfica comparativa de la Concentración Espermática.

Por grupos: — A - Inoculados con Tejido Testicular.

--- B - Inoculados con Plasma Seminal.

... C - Control.

CONCENTRACION  
ESPERMATICA  
MILLONES / ml.



▲ DIAS DE INOCULACION.

## VOLUMEN DE EYACULADO EN ml.

DIAS DE COLECCION INOCULADO	GRUPO. Y PERRO N°.						
	A1 Tejido	A2 Test.	B5 Plasma	B6 seminal	B7	C3 Control	C4
0	8.5	2.2	2.6	3.8	4.8	.5	1.2
7	7.9	.7	.4	2.8	1.5	.5	7.6
14	8	2.8	.3	3.5	10.5	.5	2.8
21	9.3	8.4	.9	1.2	17.5	.4	4.2
28	2.2	6.2	.1	3.2	10	*	1.4
35	5.2	9.8	.2	3.3	3.5	*	1.3
42	1.6	6.2	.3	2.1	1.9	*	1.4
49	3.8	4.8	.4	1.3	2.4	*	1.8
56	1.8	5.3	.5	2.7	2.8	.3	1.9
63	3.3	5.4	1.2	2.5	.3	.2	1.7
70	1.4	8.2	*	.8	.4	.2	1.6
77	.6	9	1.3	.7	10.8	.6	1.1
$\bar{X}$	4.46	5.75	.74	2.32	5.53	.4	2.33

El volumen de eyaculado como se puede apreciar es constante hasta cierto grado en los perros control (3 y 4), pero en los perros - 1, 5 y 6 se presento un descenso en las ultimas semanas. En cuanto a los días 35 y 70 en el perro N° 7 se encontro un aumento mientras que en el perro N° 2 se mantuvo con ligeros cambios.

GRUPOS: A - Inoculados con Tejido Testicular.  
 B - Inoculados con Plasma Seminal.  
 C - Control.



## CUADRO N° 3.

## PORCENTAJE DE ANORMALIDADES PRIMARIAS.

DIAS DE COLECCION	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
INOCULADO	Tejido Test.	Plasma seminal				Control	
0	8	15	7	6	11	22	13
7	4	15	10	10	15	25	11
14	5	21	5	13	10	18	7
21	3	20	8	8	3	3	9
28	2	5	11	11	12	*	7
35	5	3	4	15	6	*	6
42	3	1	11	12	1	*	8
49	5	6	2	10	10	*	3
56	5	1	4	27	6	12	2
63	1	6	4	23	1	10	6
70	3	2	*	28	1	17	6
77	32	21	7	18	18	13	27
X	6.3	9.6	6.6	15	7.8	15	18.7

El comportamiento del porcentaje de anomalías primarias es variable ya que comienza en todos los perros con variaciones y no se da un aumento o una disminución constante.

Como se aprecia también en los perros N° 3 y 4 usados como control pero el perro N° 1, si se noto un incremento en esta prueba en la fase final de los muestreos.

## CUADRO N° 4.

## PORCENTAJE DE ANORMALIDADES SECUNDARIAS.

DIAS DE COLECCION INOCULADO	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
	Tejido	Test.	Plasma seminal			Control	
0	2	3	3	2	2	3	2
7	2	3	1	4	3	3	4
14	2	1	2	6	6	2	3
21	1	5	3	2	1	2	2
28	1	4	6	8	8	*	1
35	1	3	7	11	4	*	3
42	1	3	4	13	4	*	3
49	2	8	6	9	22	*	6
56	2	4	6	16	10	7	4
63	2	7	16	8	9	12	4
70	8	11	*	12	20	10	8
77	3	9	7	11	16	9	21
$\bar{X}$	2,2	5.08	5.54	8.5	8.75	6	5.08

En el cuadro se muestra un aumento del porcentaje de anomalías secundarias en casi todos los perros, excepto el N° 1 en el que casi se mantuvo dentro de un rango hasta las dos últimas semanas que hubo un aumento y luego un descenso que podría entrar dentro del rango normal.

## CUADRO N° 5.

## ESPERMATOZOIDES NORMALES (%).

DIAS DE COLECCION	GRUPO Y PERRO N°.						
	<u>A1</u>	<u>A2</u>	<u>B5</u>	<u>B6</u>	<u>B7</u>	<u>C3</u>	<u>C4</u>
<u>INOCULADO</u>	Tejido	Test.	Plasma	seminal		Control	
0	90	82	90	92	87	75	85
7	94	82	89	86	82	72	85
14	93	78	93	81	84	80	90
21	96	75	89	90	64	80	89
28	97	91	83	81	80	*	92
35	94	94	89	74	90	*	91
42	96	96	85	74	95	*	89
49	93	86	93	81	68	*	88
56	93	95	90	59	84	81	94
63	97	87	80	69	90	78	90
70	89	87	*	60	79	73	86
77	65	69	86	57	68	77	53
<u>X</u>	91.41	85.16	87.90	76.16	80.91	77	86

La mayoría de los perros presentaron un descenso moderado en el porcentaje de espermatozoides normales, contra los valores en el perro N° 3 que obtuvo y que funciono como control que se mantuvo sin gran variación pero no fue así en el perro control N° 4 que tuvo un descenso solo en la ultima semana pero se comporto con cierta uniformidad mejor que los otros perros probados.

MOTILIDAD ESPERMÁTICA INDIVIDUAL (%).

DIAS DE COLECCIÓN	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
INOCULADO	Test.	Test.	Plasma	seminal	Control	Control	Control
0	60	65	80	75	70	65	80
7	70	65	65	80	75	75	70
14	70	60	55	70	80	65	80
21	80	75	65	70	80	65	80
28	65	80	65	70	75	*	85
35	80	65	80	80	75	*	80
42	80	65	65	80	75	*	75
49	75	85	79	75	70	*	75
56	75	75	75	75	75	70	80
63	80	75	80	75	65	65	75
70	80	80	*	65	80	65	75
77	80	80	85	60	80	75	65
X	74.58	72.5	72.18	72.91	75	68.12	76.66

En todos los perros se mostro la motilidad espermática con cierta variación, que de acuerdo con los promedios de cada uno, la variación es mínima.

## CUADRO N° 7.

## APARIENCIA DEL EYACULADO.

DIA DE COLECCION	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
INOCULADO	Tejido Test.	Plasma seminal				Control	
0	acuosa	acuosa	lechosa	acuosa	lechosa	turbia	lechosa
7	acuosa	acuosa	lechosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa
14	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	lechosa
21	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	lechosa
28	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	acuosa	*	lechosa
35	acuosa	acuosa	lechosa	acuosa	acuosa	*	lechosa
42	acuosa	acuosa	acuosa	lechosa	acuosa	*	lechosa
49	acuosa	acuosa	lechosa	lechosa	acuosa	*	lechosa
56	acuosa	acuosa	lechosa	lechosa	acuosa	acuosa	lechosa
63	acuosa	acuosa	lechosa	lechosa	lechosa	lechosa	lechosa
70	acuosa	acuosa	*	acuosa	acuosa	acuosa	lechosa
77	acuosa	acuosa	lechosa	acuosa	acuosa	acuosa	turbia

No hubo variación en apariencia del eyaculado en los perros 1 y 2 pero una ligera variación en los perros 4 (control), 6 y 7.

La apariencia del eyaculado denota una concentración espermática aproximada.

acuosa - mínima concentración.

turbia - mediana concentración.

lechosa - mayor concentración.

## CIRCUNFERENCIA ESCROTAL EN CNTS.

DIA DE COLECCION INOCULADO	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
	Tejido	Test.	Plasma seminal			Control	
0	12	14	12	16	12	13.5	15
7	12.5	14	12.5	16.5	12.5	13.5	15
14	11.5	12.5	11.5	16.5	12	13.5	15
21	11.5	12.5	11	16.5	12.5	13.5	15
28	11.5	12.5	11.5	16.5	12.5	13.5	15
35	11.5	12.5	11.5	16.5	12.5	13.5	15
42	11.5	12.5	11.5	16.5	12.5	13.5	15
49	11.5	12.5	11.5	16.5	12.5	13.5	15
56	11.5	12.5	12	16.5	12.5	13.5	15
63	11.5	12.5	12.5	16.5	12.5	13.5	15
70	11.5	12.5	12.5	16.5	12.5	13.5	15
77	11.5	12.5	12.5	16.5	12.5	13.5	15
$\bar{X}$	11.5	12.7	11.9	16.45	12.41	13.5	15

Sin variación en los perros control (N° 3 y 4).

Pero en los perros N° 1 y 2 hubo un descenso hasta un centímetro y un centímetro y medio respectivamente despues de un aumento en el perro N° 1 de medio centímetro y en el perro N° 5 mostro un -- descenso y luego un aumento hasta los valores anteriores.

## CONSISTENCIA TESTICULAR.

DIA DE REVISION	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
INOCULADO	Tejido Test.	Plasma seminal				Control	
0	-	-	-	-	-	-	-
7	*	-	-	-	-	-	-
14	*	*	**	*	**	*	-
21	*	*	***	*	***	*	-
28	**	**	***	*	***	*	-
35	***	***	***	**	***	*	-
42	***	***	***	**	***	*	-
49	***	**	***	**	***	*	-
56	***	**	***	**	***	*	-
63	***	*	***	**	***	*	-
70	***	*	***	**	***	*	-
77	***	*	***	**	***	*	-
X	**	*	**	*	**	*	-

Sin variación en perros control a excepción del perro N° 3 en el que hubo un cambio después del día 14. En cuanto a los perros N° 1, 5, 6 y 7 se noto un cambio hasta un ligero endurecimiento, pero en el perro N° 2 se noto un ligero aumento y descenso mostrandose un endurecimiento en los días 35 y 42.

- elastico    \* firme    \*\* casi duro    \*\*\* duro

CUADRO N° 10.  
CONSISTENCIA TESTICULAR.

DIA DE REVISION	GRUPO Y PERRO N°.						
	A1	A2	B5	B6	B7	C3	C4
INOCULADO	Tejido Test.	Plasma	seminal			Control	
0	-	-	-	-	-	-	-
7	*	*	*	*	*	-	-
14	*	*	*	*	*	-	-
21	*	*	**	**	**	-	-
28	**	**	**	**	**	-	-
35	**	**	**	**	**	-	-
42	**	**	**	**	**	-	-
49	**	**	**	**	**	-	-
56	**	**	**	**	**	-	-
63	**	**	**	**	**	-	-
70	**	**	**	**	**	-	-
77	**	**	**	**	**	-	-

En perros control sin cambios aparentes. En los perros N° 5, 6 y 7 hubo un endurecimiento a partir del día 21 y en los perros N° 1 y 2 en el día 28 hasta el final del trabajo.

- firme

\* casi duro

\*\* duro

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



El modelo estadístico con el cual fueron analizados los resultados fue mediante el análisis de Bloques. (Daniel, 1988). Los puntos que se probaron y su resultado fue el siguiente:

- \* DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS DOS METODOS DE INOCULACION Y EL CONTROL.

NO HAY DIFERENCIAS ENTRE LOS TRES METODOS.  
 =====

- \* DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LA MOTILIDAD ESPERMATICA INDIVIDUAL DE UNO Y OTRO METODO DE INOCULACION.

NO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.  
 =====

- \* DIFERENCIA SIGNIFICATIVA DE ANORMALIDADES SECUNDARIAS ENTRE UNO Y OTRO METODO DE INOCULACION.

NO HAY DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.  
 =====

- \* DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL ENTRE UNO Y OTRO METODO DE INOCULACION.

SI HAY DIFERENCIAS ALTAMENTE SIGNIFICATIVAS.  
 =====

El uso de tejido testicular y plasma seminal como antígeno con el fin de causar una infertilidad en perros, induce una respuesta inmune que se identifica por las alteraciones encontradas en la circunferencia escrotal, consistencia epididimal y testicular. Ya que al presentarse la reacción antígeno tisular anticuerpo, existe una inflamación y con ello pasan a la circulación los antígenos secuestrados, en este caso los del plasma seminal y tejido testicular, y de esta manera una inducción a la producción de anticuerpos en contra de sus propios antígenos. (Sosa y col, 1984). Sin embargo de todos los animales tratados ninguno mostro en forma aparente orquitis, como podría esperarse.

Los resultados de la consistencia testicular, demuestran un endurecimiento en todos los perros tratados, con una respuesta un tanto mayor al antígeno de plasma seminal, aunque uno de los - perros inoculados con el antígeno de tejido testicular mostro una respuesta similar a los tratados con plasma seminal.

La consistencia del epididimo se presento como inflamación después de la tercera semana y se mantuvo hasta el final del trabajo, esto indica que hubo una alteración pero no fue suficiente para manifestarse en las pruebas de examen general del semen, como lo encuentra Cuasnicó en su trabajo. (Cuasnicó, 1984).

Las concentraciones espermáticas así como el volumen de eyaculado de los perros encontrados a lo largo de este estudio - tanto en los perros control como los tratados con los dos tipos -

de antígenos fuerón diferentes, estos resultados nos indican que existen diferentes factores que condicionan de una u otra forma - el comportamiento de estos animales, el lugar de alojamiento, manejo, alimentación, método de obtención de semen así como manipulación de genitales. (Sosa, 1981).

El porcentaje de anomalías primarias y secundarias de los espermatozoides así como el porcentaje de espermatozoides normales no se afectó considerablemente esto puede explicarse ya que, como se ha descrito previamente por Stites (1983) en testículos de cobayos inmunizados desarrollan lesiones por parches, por lo que si hubo una respuesta en el presente trabajo esta no afecta en forma directa los porcentajes de anomalías ya sea primarias y secundarias y de espermatozoides normales. (Stites, 1983).

La motilidad espermática es afectada por dos tipos de anticuerpos unos inmovilizantes y otros aglutinantes pero en este caso la motilidad no sufrió mayores alteraciones. (Menge, 1967).

Resulta además necesario completar esta serie de observaciones con la valoración biológica del comportamiento de los espermatozoides y su capacidad de fecundación en hembras, además de la determinación de la existencia de algunos mecanismos de respuesta inmune contra estas células en el animal, procedimientos que no se realizaron en este trabajo.

Dado que se realizó la prueba estadística adecuada para el análisis de los datos de esta forma se aprecia que hay diferencias altamente significativas en las dimensiones de la circunferen

cia escrotal, esto indica que hubo un daño temporal en el testiculo, esto aun más aparente con el grupo que fue inoculado con el tejido testicular que el grupo que fue inoculado con el plasma -- seminal.

## CONCLUSIONES.

La inoculación de perros machos con extracto de testículo y plasma seminal, respectivamente indujeron algunas modificaciones en las características generales de los testículos de los animales en experimentación pero esto no afectó las características del material eyaculado considerándose como normales los valores de espermatozoides y también los porcentajes de anomalías primarias y secundarias encontradas, se sugiere continuar con estos estudios como elemento inductor de infertilidad utilizando una gama más amplia de pruebas para determinarla.

Además, se podrían obtener resultados más satisfactorios si el tiempo de experimentación fuera más largo y por ende las pruebas también se prolongaran.

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aitken, R.J., Djahanbahch, J., Richardson, D.W., Kudak, E.A. and Templeton, A.A.: The influence of anti-zona and anti-sperm antibodies on sperm-egg interactions. J. Reprod. Fert. 62: 597-606 (1981).
- 2.- Alexander, A. Técnica quirúrgica en animales y temas de terapéutica quirúrgica. 5ª edición. Nueva editorial Interamericana S.A. de C.V. México. D.F. 1986.
- 3.- Barrett, J.T.: Inmunología. 1ª edición, Interamericana S.A. de C.V. México. 1972.
- 4.- Bowman y Rand. Farmacología. Bases Bioquímicas y patológicas. 2ª edición. nueva Editorial Interamericana. S.A. de C.V. México. 1984.
- 5.- Boyd, W.C.: Fundamentos de Inmunología. 2ª edición, Editorial Universitaria de Buenos Aires. Argentina. 1970.
- 6.- Brooks, D.E. y Tiver, K. Analysis of surface proteins of rat spermatozoa during epididymal transit and identification of antigens common to spermatozoa, rete testis fluid and cauda-epididymal plasma. J. Reprod. Fert. 71: 249-257. (1989).
- 7.- Calderón, M.J., Velázquez, E.A., Garza, R.J. y Valencia, M.J. Aspectos inmunológicos de la infertilidad en bovinos y su repercusión en la reproducción. Vet. Méx., 41: 63-70. (1980).

- 8.- Castro, M. E.: Manual de Prácticas de Inmunología de la ---  
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 1ª edición, Departa-  
mento de Inmunología. Instituto Politécnico Nacional. 1983.
- 9.- Cuasnicó, P.S., González, E.F., Piazza, D.A., Cameo, S.M. y  
Blaquier, J.A.: Antibodies against epididymal glycoproteins  
block fertilizing ability in rat. J. Reprod. Fert. 72, 467-471  
(1984).
- 10.- Daniel, W., Wayne.: Bioestadística. Bases para el análisis -  
de las Ciencias de la Salud. 1ª reimpression. Editorial LIMUSA  
México. 1988.
- 11.- Dfar, E., Valencia, J. y S. de Aluja, A.: Esterilidad en el  
perro inducida por la inyección de formaldehído en la cola -  
del epidídimo. Vet. Méx., 12: 73-79. (1981).
- 12.- Docher, G.B., Artzt, K., Bennett, D. y Hurtenbach, U. Observa-  
tions on autoimmune orchitis in sterile mice carrying a rece-  
ssive lethal mutation at the T/t complex exhibiting spontaneg  
us allergic orchitis. J. Reprod. Fert. 62, 505-511, (1981).
- 13.- Pjállurant, E.: Fertility in a man auto-immunized to spermat-  
zoa. J. Reprod. Fert. 14: 143-145. (1981).
- 14.- Fuentes, H., Cárdenas, J. y S. de Aluja, A.: Cálculo de la -  
población canina en la ciudad de México, determinación de sus  
condiciones de atenciones y su destino. Vet. Méx., 12: 59-71  
(1981).

- 15.- Hafez, E.S.E. Reproducción e inseminación artificial en animales. 4ª edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F. 1985.
- 16.- Horst, J.C. Clínica de las Enfermedades del Perro. 1ª edición Editorial Acribia Zaragoza. España. 1981.
- 17.- Mc Donald, L.E.: Reproducción y Endocrinología Veterinarias. 1ª edición. Editorial Interamericana, S.A. México. D.F. 1984.
- 18.- Menge, A.C. Origin of the antigens in rabbit semen which induce antifertility antibodies. J. Reprod. Fert. 13: 31-40. (1967).
- 19.- Menge, A.C. Induced infertility in cattle by iso-immunization with semen and testis. J.Reprod. Fert. 13; 445-456. (1967).
- 20.- Moore, H.D.M. y Hartman, D.T. Localization by monoclonal antibodies of various surface antigens of hamster spermatozoa and the effect of antibody on fertilization in vitro. J. Reprod. Fert. 70, 175-183. (1984).
- 21.- Morilla, A. y Bautista, R.C. Manual de Inmunología. 1ª edición Diana Técnico. México. D.F. 1986.
- 22.- Payró, J.L.: El Perro y su Mundo. Tratado de Zootecnia canina 1ª edición. Loera Chavez Hnos. Cia. Editorial S.A. México.(1981)
- 23.- Roa, F.: Castración inmunológica del cerdo adulto. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional



Autónoma de México, México, 1986.

- 24.- Robert, S.J. Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción (Teriogenología). 1ª edición. Editorial El Manual -- Moderno S.A. de C.V. México, 1970.
- 25.- Rutherford, P.A. y R.F. Searle.; Cell-mediated immunity to male-strain histocompatibility alloantigens detected after natural insemination and systemic immunization in the female mouse using the cell-mediated microcytotoxicity test. J. Reprod. Fert. : 72, 543-550. (1984).
- 26.- Sosa, O.H. y Vega, C.C. Tesis de Licenciatura. Esterilización química como recurso para el control de la población canina en la zona Metropolitana y efectos sobre el eyaculado de los perros tratados con dimetil sulfoxido y diacetato de clorhexidina. Facultad de Estudios Superiores. Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Incalli, Estado de -- México, 1984.
- 27.- Stites, D.P., Stubb, D.I., Funderberg, H.H. y Wells, J.V. Inmunología Clínica. 4ª edición, Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México, D.F. 1983.
- 28.- Segoviano, G.S. y Carrillo, M.H.: Efecto de las sales de -- cadmio en el testículo del perro. Vet. Méx., 6: 1-27. (1975).
- 29.- Tinneberg, H., Birke, R and Mettler, I. Effect on fertility of female mice of the transfer of lymphocytes from females -- previously immunized with mouse spermatozoa. J. Reprod. Fert.

- 30.- Zemjanis, R.: Reproducción Animal. Diagnósticos y Técnicas -  
Terapéuticas. 6ª reimpresión. Limusa, México, 1981.
- 31.- Zermeno, A.H. y Paasch, H.L.: Evaluación de las lesiones pro-  
ducidas en el testículo de gallos reproductores por la furazo-  
lidona. Vet. Méx., 15: 263-266.