



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y SALUD ANIMAL

**“EFECTO DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 Y 6 SOBRE LA
CALIDAD SEMINAL DEL PERRO (*Canis lupus familiaris*)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

LEOBARDO MENDOZA ROSAS.

TUTOR

MPA. CARLOS F. ESQUIVEL LACROIX

COMITÉ TUTORAL

DR. JOSÉ ALFREDO MEDRANO HERNÁNDEZ

DRA. MARTA ROMANO PARDO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

AGRADEZCO INFINITAMENTE AL INP, AL CINVESTAV Y ESPECIALMENTE A LA FMVZ POR BRINDARME EL APOYO EN LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.

AL AMARILLO POR SU APOYO Y CONOCIMIENTO COMPARTIDO, ADEMÁS DE SU AMISTAD.

A LOS DOCTORES MEDRANO, ROMANO, VIGUERAS Y ANGELES POR SU PACIENCIA Y TIEMPO DEDICADO A ESTE TRABAJO.

A TODOS AQUELLOS QUE COMO MAESTROS CONTRIBUYERON EN MI FORMACIÓN PROFESIONAL

DEDICATORIAS

**A DIOS:
POR PERMITIRME VIVIR Y ASÍ LLEGAR A EXISTIR**

**A MIS PADRES:
POR FORMAR EL BINOMIO PERFECTO Y EDIFICAR UNA GRAN FAMILIA**

**A MI HERMANA Y HERMANOS:
POR SU CONFIANZA Y APOYO DURANTE 29 AÑOS MOTIVANDOME SIEMPRE A SER
UN MEJOR SER HUMANO Y PROFESIONAL**

**A MI RAYO FINO DE LUZ:
POR LLEGAR A MI VIDA Y HACERLA MARAVILLOSA E INIMAGINABLE**

**A MIS SOBRINOS:
PARA QUE ALGÚN DIA YO ESTÉ EN SUS DEDICATORIAS DE TESIS**

**A MIS CUATES:
POR SU AMISTAD Y APOYO EN TODO MOMENTO**

ÍNDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTOS	II
DEDICATORIAS	III
RESUMEN	IV
ABSTRAC	V
CONTENIDO	VI
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS	4
JUSTIFICACIÓN	4
CAPITULO 1. MARCO DE REFERENCIA	6
1.1 El Perro doméstico (Canis lupus familiares)	6
1.1.1 Origen del perro	6
1.2 Aspectos de la reproducción canina	7
1.2.1 Reproducción del perro	7
1.2.2 Espermatogénesis y maduración espermática	8
1.2.3 Parámetros reproductivos del perro	9
1.2.4 Análisis del semen canino	10
1.2.4.1 Características de la evaluación espermática	10
1.2.4.2 Exploración física	10
1.2.4.3 Valoración del semen canino	12
1.2.4.4 Evaluación macroscópica del semen	12
1.2.4.5 Evaluación microscópica del semen	13
1.2.4.6 Factores que afectan las características del semen	14
1.2.4.7 Interpretación final del semen	15
1.3 Aspectos de la nutrición canina	16
1.3.1 El concepto energético	17
1.3.2 Proteínas	19
1.3.3 Lípidos	19
1.3.4 Carbohidratos	20
1.3.5 Minerales	20

1.3.6 Vitaminas	Pag. 21
1.3.7 Influencia de la nutrición en la reproducción del perro	22
1.3.8 Importancia de los ácidos grasos omega 3 y 6	23
1.3.9 Otras características metabólicas de los omegas 3 y 6	30
1.3.10 Necesidades dietéticas de ácidos grasos esenciales	32
CAPÍTULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS	35
2.1 Lugar y condiciones ambientales para la fase de Experimentación	35
2.1.1 Selección de los animales	36
2.1.2 Manejo de los animales	36
2.1.3 Tratamiento	36
2.1.4 Toma de muestra	37
2.2 Evaluación seminal	38
2.2.1 Colección de semen	38
2.2.2 Análisis macroscópico	39
2.2.3 Análisis microscópico	41
2.3 Análisis de metabolitos hormonales	44
2.3.1 Testosterona	44
2.3.2 Radioinmunoanálisis (RIA)	44
2.3.3 Validación del RIA	44
2.4 Evaluación del epitelio seminífero	45
2.5 Aplicación del análisis estadístico	47
CAPÍTULO 3. RESULTADOS	49
3.1 Evaluación Macroscópica	50
3.1.1 Volumen del eyaculado	50
3.2 Evaluación Microscópica	51
3.2.1 Concentración espermática	51
3.2.2 Movilidad espermática	56
3.2.3 Morfología espermática normal	61
3.2.4 Daño acrosomal	62
3.3 Estado del epitelio seminífero	70
3.4 Concentración de testosterona	71
CAPÍTULO 4. RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO	77
4.1 Análisis discriminante	77
4.2 Análisis estadístico con T-Student	87
4.2.1 Análisis para el daño histológico	87
4.2.2 Análisis para la concentración de Testosterona	88
4.3 Análisis de varianza (ANOVA)	88

	Pag.
4.3.1 <i>Análisis para daño histológico</i>	88
4.3.2 <i>Análisis para concentración de testosterona</i>	88
4.3.3 <i>Análisis para la concentración espermática</i>	88
4.3.4 <i>Análisis para el volumen del eyaculado</i>	88
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN	90
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	96
6.1 <i>Conclusiones</i>	96
6.2 <i>Recomendaciones</i>	96
CAPITULO 7.LITERATURA CITADA	98
CAPÍTULO 8.ANEXOS Y APÉNDICES	108
<i>Anexo I Anormalidades y daño acrosomal M0</i>	108
<i>Anexo II Anormalidades y daño acrosomal M1</i>	109
<i>Anexo III Anormalidades y daño acrosomal M2</i>	110
<i>Anexo IV Anormalidades y daño acrosomal M3</i>	111
<i>Anexo V Anormalidades y daño acrosomal M4</i>	112
<i>Anexo VI Anormalidades y daño acrosomal M5</i>	113
<i>Anexo VII Anormalidades y daño acrosomal M6</i>	114
<i>Anexo VIII Concentración de testosterona</i>	115
<i>Anexo IX Análisis discriminante T4, C. espermática M0</i>	116
<i>Anexo X Análisis discriminante T4, C. espermática M1</i>	117
<i>Anexo XI Análisis discriminante T4, C. espermática M3</i>	118
<i>Anexo XII Análisis discriminante T4, C. espermática M6</i>	119
<i>Anexo XIII Análisis discriminante IHP, M. espermática</i>	120
<i>Anexo XIV Análisis discriminante IHP, C. espermática</i>	121
<i>Anexo XV Análisis discriminante IHP, Daño acrosomal</i>	122
<i>Anexo XVI Análisis discriminante IHP, M.E, D.A</i>	123
<i>Anexo XVII Análisis discriminante IHP, T4, M.E, D.A, C.E</i>	124
<i>Anexo XVIII T-Student para daño histológico</i>	125
<i>Anexo XIX T-Student para concentración de testosterona M6</i>	127
<i>Anexo XX T-Student para concentración de testosterona M5</i>	129
<i>Anexo XXI T-Student para concentración de testosterona M4</i>	131
<i>Anexo XXII T-Student para concentración de testosterona M3</i>	133
<i>Anexo XXIII T-Student para concentración de testosterona M2</i>	135
<i>Anexo XXIV T-Student para concentración de testosterona M1</i>	137
<i>Anexo XXV T-Student para concentración de testosterona M0</i>	139
<i>Anexo XXVI ANOVA para vol.eya, con.esper, daño histológico</i>	141
Apéndice 1 Morfología normal	142
Apéndice 2 Morfología anormal	143

Apéndice 3 Acrosomas normales y con daño	Pag. 144
Apéndice 4 Formato de observaciones preliminares	145
Apéndice 5 Formato de muestreo mensual	148
Apéndice 6 Técnica de la triple tinción	150
Apéndice 7 Técnica de inclusión en EPON	151
Apéndice 8 Nomenclatura utilizada	152
Tabla 1 Parámetros reproductivos del perro	9
Tabla 2 Fórmula Multi-Oil	37
Figura 1 Familias de ácidos grasos	27
Figura 2 Transformación de ác. Linoleico y ác. Linolénico	29
Figura 3 Instalaciones	35
Figura 4 Toma de muestra sanguínea	38
Figura 5 Toma de muestra seminal	39
Figura 6 Volumen del eyaculado	39
Figura 7 Color del eyaculado	40
Figura 8 pH del eyaculado	40
Figura 9 Movilidad espermática	41
Figura 10 Concentración espermática	41
Figura 11 Morfología espermática	42
Figura 12 Metodología de la triple tinción	43
Figura 13 Epitelio sano	45
Figura 14 Epitelio dañado	45
Figura 15 Inclusión en EPON	46
Figura 16 Índice Histopatológico	47
Cuadro General (Resultados del Inicio y final de la investigación)	49
Cuadro 1 Necesidades energéticas de mantenimiento	17
Cuadro 2 Variación en necesidades energéticas	18
Cuadro 3 Necesidades energéticas durante el crecimiento	18
Cuadro 4 Necesidades proteicas	19
Cuadro 5 Necesidades de calcio y fosforo	20
Cuadro 6 Recomendaciones de microelementos	21
Cuadro 7 Recomendaciones de vitaminas	22
Cuadro 8 Contenido de ác. Grasos en materias grasas	24
Cuadro 9 Resultados del volumen del eyaculado	50
Cuadro 10 Resultados de la concentración espermática	51
Cuadro 11 a 17 Resultados de concentración espermática por muestreo	52 a 55
Cuadro 18 Resultados de la movilidad espermática	56
Cuadro 19 a 25 Resultados de la movilidad espermática Por muestreo	57 a 60
Cuadro 26 Resultados de la morfología espermática	61

Cuadro 27 Resultados del daño acrosomal	Pag. 62
Cuadro 28 a 34 Resultado de espermatozoides y acrosomas Normales por muestreo	63 a 69
Cuadro 35 Resultados del índice histopatológico	70
Cuadro 36 Resultados de la concentración de testosterona	71
Cuadro 37 a 43 Resultados de la concentración de testosterona Por muestreo	72 a 75
Gráfico 1 Volumen del eyaculado	50
Gráfico 2 Concentración espermática	51
Gráfico 3 a 9 Concentración espermática por muestreo	52 a 55
Gráfico 10 Movilidad espermática	56
Gráfico 11 a 17 Movilidad espermática por muestreo	57 a 60
Gráfico 18 Morfología espermática	61
Gráfico 19 Daño acrosomal	62
Gráfico 20 a 33 Espermatozoides y acrosomas normales Por muestreo	63 a 69
Gráfico 34 Daño del epitelio seminífero	70
Gráfico 35 Concentración de testosterona	71
Gráfico 36 a 42 Concentración de testosterona por muestreo	72 a 75
Gráfico 43 a 45 Análisis discriminante para testosterona y Concentración espermática	78 a 80
Gráfico 46 Análisis discriminante para testosterona, concentración espermática y daño histológico	81
Gráfico 47 Análisis discriminante para daño histológico y Morfología espermática	82
Gráfico 48 Análisis discriminante para daño histológico y Concentración espermática	83
Gráfico 49 Análisis discriminante para daño histológico y Daño acrosomal	84
Gráfico 50 Análisis discriminante para daño histológico, Morfología espermática y daño acrosomal	85
Gráfico 51 Análisis discriminante para daño histológico, Testosterona, morfología espermática, daño acrosomal y Concentración espermática	86

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto que tienen los ácidos grasos omega 3 y 6 sobre la calidad del semen de perro. El tratamiento consistió en suplementar la dieta de los perros con dos concentraciones diferentes de omegas, teniendo como referencia a un grupo control. Se seleccionaron 18 perros adultos en etapa reproductiva (2 a 6 años), clínicamente sanos, los cuales fueron asignados de manera aleatoria a tres grupos de seis integrantes (Grupo Control, Grupo 1 y Grupo 2), todos los perros estuvieron bajo las mismas condiciones ambientales. Los tres grupos fueron alimentados bajo la misma dieta durante 6 meses con la ración correspondiente al peso de cada perro. Mientras el grupo "control" solo consumió la dieta comercial con la dosis 6.6 mg. (0.1 %) de Omega 3 y 79 mg. (1.2 %) de Omega 6 propia de la fórmula del alimento (ProPlan mantenimiento), los otros dos grupos fueron suplementados diariamente con el producto comercial Multi-Oil de GNC., se administraron 124 mg. de Omega 3 y 92 mg. de Omega 6 para el grupo "1" y 248 mg. de Omega 3 y 184 mg. de Omega 6 para el grupo "2", durante el periodo de tratamiento (6 meses). Se realizaron muestreos a los perros de los tres grupos cada mes; 7 en total. El primer muestreo se realizó el día que inició el tratamiento. En cada muestreo se colectó semen por manipulación digital y sangre de la vena radial. Se evaluaron parámetros tales como; movilidad, concentración y morfología espermática. Se determinaron los niveles de Testosterona en suero, así como también, al final del tratamiento se determinó el daño del epitelio seminífero para lo que se realizó la orquidectomía bilateral tomando muestras de cada testículo para su inclusión en EPON y Parafina procediendo a su análisis histológico. El resultado de la movilidad y morfología espermática no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$), pero se observó que los dos grupos suplementados fueron negativamente afectados en estas variables en comparación al grupo control. La concentración espermática y de testosterona en los grupos suplementados fue menor que la del grupo control en el análisis estadístico ($P < 0.05$). El daño en el epitelio seminífero fue mayor en los dos grupos suplementados siendo estadísticamente significativo ($P < 0.05$). Se concluye que el exceso de ácidos grasos omega 3 y 6 dañan el epitelio seminífero y disminuye la concentración espermática y la testosterona circulante en el perro.

Palabras claves: ácidos grasos, omegas, perro, suplemento, semen.

ABSTRACT

This study tried to determinate the effects of the fatty acids omega 3 and 6 above the quality spermatic dogs. The treatment consists on a diet with 2 different concentrations of supplement, taking as a reference a control group. 18 reproductive and healthy dog's (2 to 6 years old) were selected and assigned in 3 different groups randomly, each group conformed by 6 dogs (Control group, Group 1, Group 2), all dogs were treated with the same conditions. All groups had the same diet followed about 6 months in appropriate part convenient to age and weight. The control group just ate the commercial diet with 6.6 mg. (0.1%) from omega 3 and 79 mg. (1.2%) from omega 6, included in the original formula (ProPlan maintenance), the other 2 groups were supplemented day by day with Multi-Oil from GNC, a commercial product, the group 1 was supplemented with 124 mg. from omega 3 and 92 mg. from omega 6; the group 2 was treated with 248 mg. from omega 3 and 184 mg. from omega 6, during 6 months. The dogs were evaluated each month, 7 as total. The first sample was taken the day the treatment began. In each test the semen was extracted by digital manipulation and the blood from the radial vein. In each sample the evaluation was above: concentration, mobility and spermatic morphology. Testosterone levels were determinated as well as the epithelium seminífero damage, at the end by a bilateral orquidectomia taking samples of each testicle to proceed with the Paraffin and EPON inclusion. The morphology and mobility results wasn't statistics significat ($P > 0.05$), but the supplemented groups has a negative effect comparing the control group. The spermatic and testosterone concentration on supplemented groups was lower than the control group at the statistic analysis ($P < 0.05$). The epithelium seminífero damaged was higher at the two supplemented groups, being statistic significant ($P < 0.05$). We conclude that the over supplemented diets with fatty acids omega 3 y 6 cause damage at the epithelium seminífero and a decrease the spermatic and testosterone concentration of dog.

Key words: *fatty acids, omega, dog, supplement, sperm.*

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La comercialización de los alimentos para mascotas, en especial la del perro ha tenido un importante crecimiento en los últimos años en respuesta a diferentes situaciones, uno de ellos la comodidad que sugiere el manejo de estos productos al propietario de una mascota y mucho más para los criadores y veterinarios, sin embargo el problema radica en el pensar que al ser un alimento de una marca reconocida, el organismo del perro va a funcionar a la perfección, dejando a un lado los principios básicos de que una deficiencia o un excedente en la concentración de un nutriente como vitaminas, minerales o ácidos grasos tendrá un efecto negativo en alguno de los sistemas del organismo.

Desde hace muchos años, se ha pensado que el factor más limitante para el éxito reproductivo en mamíferos salvajes y domesticados es la nutrición. El estado nutricional se relaciona con la edad a la pubertad, eventos psicológicos que controlan el ciclo estral, la eficiencia de fertilización, implantación, mantenimiento de la preñez y longitud del intervalo de anestro posparto. En la naturaleza, la habilidad del sistema reproductivo para responder a cambios en la nutrición, es una importante adaptación crítica para sobrevivir bajo cambios de las condiciones ambientales (Williams, 1999).

Durante mucho tiempo se ha relacionado el impacto de la nutrición sobre la eficiencia reproductiva de las especies domésticas. Se ha llegado a subestimar la importancia que tiene la nutrición sobre el sistema reproductivo, considerando su buen funcionamiento como un lujo para el organismo (Threlfall y Lepine, 1996).

Así como muchos otros factores, la nutrición adecuada de los animales en época reproductiva es necesaria para la salud, la viabilidad y crecimiento de su descendencia. Se ha observado que una gestación y lactación adecuadas en los animales de compañía son el resultado de una combinación de diversos elementos. Entre estos, se incluye la selección de animales de razas sanas, la aplicación de técnicas correctas de reproducción, el mantenimiento de un ambiente idóneo y la provisión constante y prolongada de una dieta adecuada. Idealmente, la alimentación y mantenimiento correctos de los animales que van a reproducirse comienza durante el crecimiento y desarrollo de los progenitores y continúa a lo largo de todo el apareamiento, gestación y lactación. Partiendo de estas ideas que generalmente son manifestadas por médicos veterinarios y expertos criadores, que lamentablemente no fundamentan estas premisas con bases en investigaciones científicas actuales, se necesita replantear el aspecto nutricional en los perros. El desarrollo de experimentos científicos recientemente hechos han encontrado, que contrario a lo que se piensa respecto a la utilización de un suplemento de nutrientes además de ofrecer una dieta comercial estrictamente balanceada para cubrir los requerimientos nutricionales del perro, llega a afectar de manera significativa el funcionamiento correcto del organismo (Case et al, 1997).

Recientes estudios reportan alteraciones reproductivas a causa de factores nutricionales y cambios ambientales en la espermatogénesis. En humanos el estilo

de vida es un factor importante en el efecto deletéreo de la espermatogénesis (Bujan, 1998). Las deficiencias nutricionales provocan problemas en la reproducción, es el caso de las alteraciones en la composición de los ácidos grasos, que provocan un daño en las células de Sertoli. Estos cambios en las células de Sertoli causados por una deficiencia de ácidos grasos esenciales pueden tener importantes consecuencias, pues juegan un importante papel en el proceso espermatogénico (Marzouki y Coniglio, 1982). La suplementación de ácidos grasos omega 3 puede incrementar la desaturación delta 6 de los microsomas testiculares, sugiriendo que el omega 3 puede reemplazar funcionalmente a los omega 6 en el tejido germinal de ratas (Ayala et al, 1977). Los microsomas testiculares pueden desaturar y elongar los ácidos araquidónico (AA) y linoléico (AL) de forma similar a los microsomas del hígado, a través de la mitocondria testicular, la capacidad de los microsomas testiculares pero no los del hígado, para sintetizar ácidos grasos poliinsaturados declina con la edad. Por lo tanto se recomienda suplir el AA del testículo bajo requerimientos específicos para animales viejos (Ayala et al, 1973). Lo anterior se sugiere porque el AA se mantiene en el tejido más efectivamente que el AL (Ikeda et al, 1996), aunque se ha comprobado que el proceso de espermatogénesis no disminuye en perros viejos (Peters et al, 2001).). También se ha encontrado que los bajos niveles de omega 3 en relación con omega 6 produce problemas de próstata en perros (Attar-Bashi et al, 2003) Otro punto importante que se ha considerado en el balance de dietas para perros y en suplementos para estos, es la relación que debe existir entre omega 3 y 6. Para las dietas comerciales se considera una relación 1:10 como estándar para cubrir las necesidades fisiológicas; sin embargo la relación de estos omegas utilizada para corregir múltiples patologías como se sugiere para dermatitis atópica son 1:5.5 (Scott et al, 1997; Abba et al, 2005), 1:10 (Mueller et al, 2005). Sin embargo los resultados en el tratamiento con omega 3 y 6 para los problemas de piel han sido inconsistentes (Campbell y Dorn, 1992). Otras patologías que han sido tratadas con omega 3 y 6 son artritis reumatoide con concentraciones de ácido eicosapentanoico (EPA) 1.4 gr. Ácido docosahexanoico (DHA) 0.211 gr. Gamma LL 0.5 gr. (Remans et al, 2004), problemas inflamatorios generales Gamma LL 1.6 gr. EPA 270 mg. DHA 45 mg/día. (Middleton et al, 2002). Para disminuir problemas de epilepsia EPA 1 gr. DHA 0.7 gr. (Yuen et al, 1996). Todos estos problemas han sido tratados en humanos y los resultados siempre han sido inconsistentes cuando los ácidos grasos fueron suplementados en la dieta (Van Gool et al, 2004). Se han realizado muchos estudios acerca de la deficiencia de vitamina A, la mayoría son experimentos en ratas, los resultados obtenidos indican que una deficiencia de retinol provocan un desarrollo cuantitativo y cualitativo anormal del espermatozoido (Beek y Meistrch, 1992). La vitamina A afecta directamente las células ubicadas en el epidídimo distal, túbulo deferente y próstata, y llega a producir degeneración testicular (Bieri y Prival, 1966). Se ha encontrado por causa de la deficiencia en Vitamina A degeneración de las células germinales, dejando al túbulo seminífero solo con células de Sertoli, espermatogonias tipo A y algunos espermatozoidos por lo que se asocia a la baja producción espermática y testosterona (Van Pelt et

al,1991). Otro elemento importante es la vitamina D, según los resultados de los estudios realizados indican un retardo en la espermatogénesis debido a los disturbios en la función de las células de Sertoli y Leydig por una deficiencia en la vitamina D (Ullrey y Bernard, 1999). El selenio y las vitaminas C y E, también juegan un papel importante dentro de la reproducción, son necesarios para el desarrollo normal y mantenimiento de la integridad estructural y función locomotora de los espermatozoides (Carrión y Medel, 1998; Bensoussan et al, 1998). Cada uno de los elementos estudiados tiene efectos específicos en la calidad del semen, están los que afectan la concentración espermática, los que provocan anomalías en los espermatozoides, la motilidad y viabilidad espermática o simplemente los que afectan el volumen. Los niveles hormonales pueden ser importantes indicadores de problemas reproductivos y en especial de la calidad del semen (Zhuang et al, 1997). En ratas bajo condiciones estresantes se elevan sus concentraciones de testosterona, debido a que la rata dominante tiene altos niveles de una enzima que contrarresta las elevadas concentraciones de glucocorticoides para asegurar su reproducción (Monder et al, 1994) y los individuos subordinados presentan típicamente elevadas concentraciones de glucocorticoides (Sapolsky, 1992), este hecho no solamente está referido a roedores ya que se ha reportado en cánidos (*Lycaon pictus*), por lo tanto las concentraciones elevadas de cortisol producidas por altos grados de estrés pueden estar favoreciendo la producción de testosterona, aunque aún se desconoce el mecanismo de acción (Ugas, 2004). En el *Lycaon pictus* solamente se reproduce la pareja alfa o simplemente el macho dominante es el capaz de reproducirse, pero durante todo el periodo reproductivo hay peleas por las hembras, lo que eleva las concentraciones de cortisol producto del estrés (Welch et al, 1999). En otras especies como el cerdo el incremento de testosterona inducido por ACTH en los testículos es independiente de los cambios en las concentraciones de LH a nivel periférico. En conejos se demostró el efecto directo de la ACTH sobre la producción de testosterona (Fenske, 1980). El efecto de la ACTH *in vivo* puede ser directo sobre los testículos debido a la presencia de receptores específicos en los tejidos testiculares (Ortlip et al, 1981). Esta bien fundamentado que la consecuencia que causa una deficiencia nutricional en los perros, sin embargo sobre que ocurre con los excesos en algún ingrediente de la dieta la información es escasa. Al suministrar dietas mal balanceadas y deficientes o excedidas en algunos elementos provoca que se originen fallas en el organismo (Ullrey y Bernard, 1989). Todos los estudios realizados y que han encontrado efectos negativos específicos en los procesos reproductivos a causa de un incremento o deficiencia de algún elemento en la dieta, sugieren la continua investigación sobre el tema a fin de lograr un óptimo en todo lo que implican los procesos reproductivos. Como las publicaciones de este tipo de investigaciones se han enfocado a experimentar en especies de laboratorio (roedores y primates) y humanos, es importante que este tipo de estudio se realicen en otras especies de interés clínico veterinario, como el perro.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de los ácidos grasos Omega 3 y 6 sobre las características seminales y de la concentración de testosterona circulante del perro.

OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar la calidad del semen de perros, sometidos a diferentes concentraciones de ácidos grasos Omega 3 y 6, alimentados con la misma dieta.

Evaluar el estado del epitelio seminífero de ambos testículos de todos los perros al final del tratamiento.

Evaluar los niveles de testosterona en suero, de perros sometidos a diferentes concentraciones de ácidos grasos Omega 3 y 6, alimentados con la misma dieta.

HIPÓTESIS

Las concentraciones de ácidos grasos Omega 3 y 6 por arriba de los valores sugeridos en las dietas comerciales, administrados como suplemento en la dieta, provocan una alteración en la espermatogénesis del perro.

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años ha incrementado la demanda de alimentos comerciales para mascotas en diferentes lugares del mundo. En su mayoría las formulas de estos alimentos están completamente balanceados de acuerdo a las necesidades de cada talla y etapa de desarrollo del perro. A su vez también ha aumentado la práctica de complementar o suplementar algún elemento en la dieta pensando en mejorar algún aspecto físico o fisiológico del animal. Sin embargo existe la posibilidad de que haya efectos negativos con el suplemento, es el caso de los ácidos grasos Omega 3 y 6 que alteran la espermatogénesis.

CAPITULO 1

“EL CONOCIMINETO NOS CONDUCE A LUGARES SIN FRONTERAS”

CAPÍTULO 1. MARCO DE REFERENCIA

1.1 EL PERRO DOMÉSTICO (*Canis lupus familiares*)

1.1.1 ORIGEN DEL PERRO

La familia de los perros, llamada *Canidae*, del latín *canis*, que significa perro, incluye alrededor de 37 especies actuales de lobos, chacales, zorros, perros salvajes y perros domésticos.

Hace 30 millones de años, durante el período Oligoceno, apareció sobre la Tierra la primera criatura con apariencia de perro, el *Cynodictis*, un animal con un prolongado hocico. Los fósiles más primitivos de la familia de los perros se han encontrado en Norteamérica y son de este período. Otra criatura parecida a los cánidos, el *Tomarctus*, evolucionó durante el período Mioceno hace 24 millones de años. A su vez, hace 300 mil años, el género *Canis* evolucionó, convirtiéndose en *Canis lupus* o *Lobo*. Descendiente de este lobo, el primer perro doméstico se remonta a unos 12 mil años. El lobo es el antepasado de todos los perros domésticos, incluido el Gran Danés, que es mucho más grande que el lobo y el Chihuahua, que es mucho más pequeño. Las formas externas de estas razas pueden parecer completamente distintas de las del lobo y entre sí, pero dentro de su piel cada perro siente y se comporta como un lobo. El lobo es el más grande de todos los perros salvajes actuales. Durante la última época Glacial, hace unos 40 mil años, tanto los lobos como los humanos vivían en grupos familiares de cazadores sociales. Probablemente los lobos empezaron a alimentarse de carroña y a comer los desperdicios que dejaban los humanos. Con esto, algunos lobeznos llegarían a amansarse y al cabo de muchas generaciones se convirtieron en perros domésticos. La gente del antiguo Egipto y Asia Occidental fueron los primeros en criar diversas clases de perros, tales como Mastines y Galgos. En tiempos de los romanos existían ya la mayoría de las formas y tamaños de perros conocidos actualmente. Usaban galgos y perros de presa para cazar, mientras los grandes Mastines se consideraban ideales para la pelea y para la guerra. Igual que el actual letrero "*Cuidado con el perro*", los romanos escribían "*Cave canem*" que significa lo mismo en latín. Todo esto se sabe por los restos óseos de estos perros, pero mejor aún por las figuras, pinturas y otras obras de arte que representan a estos animales. La escultura de los Galgos Townley, fue hallada en el monte Cagnolo, cerca de Roma, en los últimos años del siglo XVIII. En el mundo antiguo se tenían perros para cazar, pastorear, como guardianes, para el deporte y como hoy día de compañía. En el Lejano Oriente se usan los perros con muchos fines y se les incluye en el culto religioso. Siempre desde los tiempos del antiguo Egipto, los perros en las pinturas y esculturas se han representado llevando collares, hasta épocas relativamente modernas. Todos los perros domésticos del mundo, tanto un Pequinés como un Gran Danés, han heredado los ojos y orejas de su antepasado el lobo. Todos sus sentidos han evolucionado al ser un cazador social de grandes presas, pero estos sentidos se han adaptado y desarrollado en las distintas razas caninas por medio de la "selección artificial".

Esto significa, por ejemplo los Galgos, que a aquellos cachorritos con una especial vista se les ha seleccionado como futuros padres durante siglos, de manera que en el transcurso del tiempo los Galgos han desarrollado una vista aún mejor que la de los lobos. Un cambio que se ha producido en casi todos los perros domésticos es que los ojos miran hacia adelante más que hacia los lados, como sucede en el lobo. Al lobo se le ha exterminado en la mayor parte de su vasta área de distribución en Europa y Asia, y el perro Cazador Africano y el Dole se encuentran asimismo en peligro de extinción. Solamente los chacales y coyotes, al ser más pequeños y más adaptables, continúan prosperando. Los cánidos silvestres vivieron originalmente en todos los continentes del mundo, menos en Australia, donde han sido introducidos por el hombre, y en la Antártida. El perro Cazador Africano es uno de los más sociables de todos los miembros de la familia canina. No es en sí un perro, puesto que no descende del lobo, sino que pertenece a un grupo propio, el género *Lycaon*. Estos viven en grandes manadas familiares y poseen un elaborado sistema de comunicación por medio de movimientos corporales y ruidos. Recorren de día distancias enormes en busca de presas para cazar. Los Dingos de Australia han prosperado tanto en estado salvaje que hasta hace muy poco tiempo no se reconoció que en origen eran perros domésticos traídos a Australia por los aborígenes nativos hace al menos 4 mil años. Estos son probablemente los únicos descendientes puros de los perros domésticos prehistóricos. El esqueleto encontrado en Israel en una excavación arqueológica llamada Ein Mallaha y fechada hace unos 12 mil años es uno de los ejemplos más primitivos de perro doméstico jamás descubierto en el mundo (D' Andrea, 2006). Actualmente el perro domestico se encuentra clasificado como *canis lupus familiaris* (Wilson y Reeder, 1993).

1.2 ASPECTOS DE LA REPRODUCCIÓN CANINA

1.2.1 REPRODUCCIÓN DEL PERRO

Los machos dependiendo de la raza están en posibilidad de reproducirse desde el inicio de la pubertad o principio de la vida adulta (15 a 18 meses de edad), la pubertad en los perros se considera cuando el animal es capaz de liberar gametos (espermatozoides), capaces de fertilizar un óvulo, manifestándose así secuencias completas de comportamiento sexual. Cerciorándose que sus órganos genitales externos sean anatómicamente y razonablemente normales y maduros. También podemos auxiliarnos de las características sexuales secundarias como el hecho de orinar levantando la pata, marcar el territorio por medio de orina, atracción hacia las hembras, embarnecimiento del perro y producción de semen (Álvarez 1993; Ramírez 1994). Dentro del factor genético es importante considerar que la pubertad se presenta más temprano en las razas pequeñas que en las grandes, debido a que su peso adulto lo alcanzan más rápido (Galina et al, 1986). También se ha encontrado que la pubertad se acorta en animales híbridos y se alarga en perros de raza pura (Chistiansen, 1989). En cuanto al factor ambiental se debe

tener presente que los perros que son animales de compañía tienden a llegar más tarde a la pubertad que los perros que deambulan libremente (Ramírez, 1994). La alimentación deficiente se ha encontrado que puede prolongar la aparición de la pubertad y una sobre alimentación puede acortar la aparición de esta (Álvarez, 1993). Una característica importante dentro del factor sexual es que los machos presentan la pubertad más tarde que las hembras, aproximadamente 2 meses después (Ramírez, 1994). Un factor hormonal interesante es que en el macho se observa un incremento en la producción de testosterona al acercarse la pubertad, produciéndose un desarrollo testicular y la inducción de la espermatogénesis (Gunzel-Apel et al, 1984).

1.2.2 ESPERMATOGÉNESIS Y MADURACIÓN ESPERMÁTICA

Espermatogénesis - es un proceso complejo de división y diferenciación celular que conduce a la formación de espermatozoides.

Espermatocitogénesis - es la fase proliferativa de espermatogonias donde las células germinales primitivas se multiplican por una serie de divisiones mitóticas.

Espermiogénesis - (espermateliosis) es la fase de diferenciación de las espermátidas en donde el núcleo y el citoplasma de la célula pasan por unos cambios morfológicos para formar el espermatozoide.

DESCRIPCIÓN DE PROCESOS

1. Espermatocitogénesis.

El espermatogonio es activado para formar la espermatogonia activa tipo A. Gran parte de las espermatogonias tipo A se dividen mitóticamente para formar espermatogonias tipo I y algunas de los tipo A se retienen como espermatogonia tipo A "Stem". De esta manera, las células tipo A proveen células hijas para la formación de espermatozoides pero no se disminuyen en número en el proceso. Espermatogonias tipo intermedio se dividen para formar espermatogonias tipo B que proceden a la última división mitótica para formar espermatocitos primarios. La espermatogonia tipo A contiene dos o más nucleolos mientras que la espermatogonia tipo B contiene un solo nucleolo.

Meiosis: Las espermatogonias tipo B pasan por una serie de divisiones para formar 16 espermatocitos primarios de cada espermatogonia. Este proceso toma alrededor de 15 a 16 días. El número diploide de cromosomas no ha cambiado todavía. Cada espermatocito primario se divide para formar dos espermatocitos secundarios cambiando el número de cromosomas a haploides. Luego los espermatocitos secundarios forman dos espermátidas cada uno. Este último

proceso toma aproximadamente 1 o 2 días, por lo que se hace difícil ver espermatocitos secundarios debido a su corta vida. Las espermátidas son haploides.

2. Espermiogénesis (espermateliosis)

La espermátida es una célula redonda con los organelos normales de una célula. Cada uno de estos organelos esta destinado a cambiar para formar una unidad funcional del espermatozoide maduro.

1 - La membrana celular se retiene como la cobertura externa del espermatozoide.

2 - El citoplasma emigra gradualmente a lo largo del núcleo hacia el rabo recién formado y se desliza hasta el final donde se pierde dejando solo pequeños remanentes del citoplasma original.

3 - El núcleo se alarga y se achata pero se mantiene relativamente constante en tamaño y forma y forma la mayor parte de la cabeza del espermatozoide.

4 - La mayor parte de la diferencia ocurre con los organelos. El aparato de Golgi forma, a través de una serie de eventos, el acrosoma de la cabeza. Los mitocondrias forman un elemento espiral alrededor del filamento axial para formar la pieza media del espermatozoide.

La espermiogénesis comienza en los túbulos seminíferos y se completa en el epidídimo.

La espermatogénesis en los caninos dura aproximadamente 62 días (Nelson y Couto, 2000), y se divide en 10 estadios del epitelio seminífero (Foreman, 1997).

1.2.3 PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DEL PERRO

PARÁMETRO	RANGO
DURACIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS	62 DIAS
ETAPAS DEL CICLO DEL EPITELIO SEMINÍFERO	10 ESTADIOS
VOLUMEN DE EYACULADO	1 a 40 ml
COLOR DE EYACULADO	GRIS A BLACO LECHOSO
pH DEL EYACULADO	6.3 a 7.0
CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	200 A 1000 MILLONES POR ml
MOVILIDAD PROGRESIVA	70 a 90 %
MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA	80 % ESPERMATOZOIDES NORMALES

Tabla 1. Visión veterinaria 2003; 2(12).

1.2.4 ANÁLISIS DEL SEMEN CANINO

1.2.4.1 CARACTERÍSTICAS DE LA EVALUACIÓN ESPERMÁTICA

La exploración biológica de la fertilidad se inició en humanos hace más de 300 años, con el descubrimiento por Antonio Van Leeuwenhoek que, observando el semen de un hombre descubrió "una multitud de animáculos vivos, progresando con un movimiento serpentiforme de la cola, y nadando a modo de una anguila".

El vocablo que actualmente se mantiene "espermatozoide", proviene del griego "Esperien", que significa sembrar. Sin embargo, no es hasta el año 1779 en que Spallanzani muestra que el licor seminal es esencial para la fecundación, y en 1856 Pringsteim observa la penetración del espermatozoide en la célula femenina, cuando comienza a avanzar el conocimiento en el estudio del semen.

La explosión biológica de la reciente tecnología, permite un progreso sustancial en la exploración de la infertilidad, convirtiéndose el estudio estructural y funcional del espermatozoide (la espermiología) en una verdadera disciplina.

En 1929, Macomber y Sanders reconocen que la concentración espermática puede ser útil para diferenciar varones fértiles e infértiles.

El análisis de semen es una de las pruebas básicas para la elaboración de un diagnóstico en reproducción. El estudio elemental del eyaculado, esto es: número de espermatozoides, movilidad y morfología son los parámetros iniciales fundamentales para conocer si la esterilidad es de origen masculino (Núñez y Caballero, 2002).

El Médico Veterinario siempre debe realizar un análisis completo y exhaustivo de todos los órganos y sistemas. Los trastornos de otro tipo pueden afectar de manera secundaria al aparato reproductor por extensión directa de infecciones o neoplasias, o indirecta al modificar los patrones de secreción normal de alguna hormona. Además la administración exógena de fármacos, la tensión intensa, los traumatismos o las enfermedades sistémicas previas pueden alterar la función del aparato reproductor (Olar, 1983).

1.2.4.2 EXPLORACIÓN FÍSICA

Se valora en su totalidad el aparato reproductor después de una exploración física completa. Esta no requiere tanto tiempo como su análisis y debe incluir escroto, testículos, epidídimo, pene y prepucio, para terminar con un examen rectal de la glándula prostática.

ESCROTO

El escroto del perro normal debe estar cubierto en forma escasa por vello, sentirse relativamente liso y suave, con una piel que se mueva con libertad sobre los testículos, sin dolor al tacto y con grosor uniforme.

TESTÍCULOS

En el perro, el descenso testicular suele concluir días después del nacimiento y ambas gónadas deben palparse con facilidad a las seis a ocho semanas de edad. La incapacidad para palpar ambos testículos, sobre todo en perros mayores de 16 semanas de edad, es signo de criptorquidia.

Hay que palpar los testículos para valorar tamaño, forma y consistencia. El izquierdo suele ser caudal con respecto al derecho. El rango de tamaño de los testículos en perros se ha establecido entre 2 y 4 cm de longitud por 1.2 a 2.5 cm de diámetro. La asimetría testicular, la presencia bilateral de testículos pequeños o el crecimiento simétrico deben considerarse indicadores subjetivos de posibles anomalías.

Los testículos deben ser de forma oval con superficie lisa, ligeramente más gruesos en sentido dorsoventral que lateral y con movimiento libre de la cobertura escrotal.

EPIDÍDIMO Y CORDÓN ESPERMÁTICO

El epidídimo está unido a la superficie dorso lateral del testículo, con la cabeza y cola situadas en los extremos craneal y caudal respectivamente. El epidídimo se continúa como el conducto deferente, localizado dentro del cordón espermático con origen en su cola, ubicada en posición medial y dorsal con respecto a cada testículo conforme avanza a través del anillo inguinal interno. Hay que palpar el epidídimo y el cordón espermático de cada testículo en su totalidad para buscar zonas de engrosamiento o crecimiento, epididimitis, adenomiosis del epidídimo o una hernia inguinal.

PENE Y PREPUCIO

Sin erección, el prepucio cubre por completo el pene normal del perro. La balanopostitis normal se observa como una secreción muco purulenta leve que cubre la mucosa del pene. Este debe deslizarse con libertad dentro del prepucio y exponerse con facilidad al arrastrar el prepucio en sentido caudal sobre el glande. Por lo general, el prepucio puede retraerse sobre el glande. Se palpa por completo el hueso del pene para valorar su tamaño y forma.

PRÓSTATA

La próstata es la única glándula sexual accesoria en el perro. En condiciones normales se localiza cerca del borde craneal de la pelvis, aunque puede ocurrir desplazamiento hacia el abdomen conforme la vejiga se distiende por la presencia de orina (Olar, 1983).

1.2.4.3 VALORACIÓN DEL SEMEN

El análisis del semen es parte integral de la valoración de posible infecundidad o subfecundidad y hay que realizarlo como parte de la exploración sistémica previa al apareamiento. El semen se estudia inmediatamente después de obtenerlo; cualquier retraso aumenta el número de espermatozoides muertos. Hay que evitar cambios importantes en la temperatura ambiental. En condiciones ideales, todo el equipo se mantiene cerca de los 37 °C para evitar extremos de temperatura. En la actualidad, la mayor parte de los estudios microscópicos y macroscópicos del semen son subjetivos y llevados a cabo por un técnico calificado. Hoy en día se dispone de equipos automatizados analizadores de espermatozoides, que se han vuelto de gran valor en la valoración del semen de las especies humana, bovina, equina y otras. Sin importar el método utilizado para valorar el semen, hay que llenar un formulario y archivarlo en el expediente médico del paciente (Núñez y Caballero, 2002).

TÉCNICAS PARA OBTENER UNA MUESTRA DE SEMEN

La recolección de una muestra de semen puede lograrse al permitir que el macho monte una perra en celo, mediante el uso de una perra señuelo o por masturbación. La electroeyaculación requiere anestesia general y no suele utilizarse. Las vaginas artificiales de látex, que vierten el semen en un tubo de ensayo estéril, son ideales para recolectar la muestra.

No es necesaria la recolección de líquido prostático para valorar la movilidad y morfología de los espermatozoides. Tan pronto como se obtienen hay que valorar las dos primeras fracciones del semen para disminuir lo más posible los artefactos resultantes de la recolección de líquido prostático. Cuando se intenta recolectar una muestra de semen, es necesario evitar todas las distracciones posibles. El cuarto de recolección debe estar tranquilo y contar con un piso adecuado para que el macho pueda tener tracción (Esquivel, 1990; Hernández y Fernández, 1998).

1.2.4.4 EVALUACIÓN MACROSCÓPICA DEL SEMEN

VOLUMEN

El volumen de semen obtenido es muy variable y depende de la edad, la talla, la frecuencia del procedimiento y la cantidad del líquido prostático recolectado del perro. El volumen normal puede variar de 1 a 40 ml por eyaculado. Es importante recolectar toda la fracción rica en espermatozoides cuando se estudia el semen del perro. El volumen de dicha fracción varía entre 0.5 y 12 ml y es turbio, la tercera fracción que es líquido prostático es traslúcida.

COLOR

Por lo general, el semen del perro es blanco a opalescente y opaco. La intensidad de la opacidad depende de la concentración de espermatozoides. Un semen claro e incoloro sugiere azoospermia. Se encuentra un tinte amarillento por contaminación con orina o pus. Un tinte verde, con o sin cúmulos, coágulos o escamas, sugiere pus e infección en el aparato reproductor. Un tinte rojo sugiere la presencia de sangre, que suele provenir de la próstata o de un pene traumatizado.

En general, cualquier color anormal debe alertar al médico respecto a la posibilidad de un problema y es necesario considerar el estudio cuidadoso del aparato reproductor.

pH

El pH normal del semen canino oscila entre 6.3 a 6.7 y depende, de la cantidad de líquido prostático obtenido. Este tiene un rango de pH de 6.0 a 7.4 con una media normal de 6.8. Se cree que la naturaleza alcalina del líquido prostático favorece el aumento de la movilidad espermática y la neutralización del ambiente ácido de la cúpula vaginal durante la cópula. Un aumento en el pH del semen se vincula con una eyacuación incompleta o inflamación de testículos, epidídimos o próstata (Nett y Olson, 1983).

1.2.4.5 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DEL SEMEN

MOVILIDAD

Se valora la movilidad de los espermatozoides individuales tan pronto como sea posible después de obtener la muestra de semen. Se coloca una gota de semen en una laminilla limpia previamente entibiada y se observa al microscopio a x 200 hasta x 400 en cuanto a movimientos de avance progresivos de espermatozoides individuales.

La movilidad progresiva de avance se considera normal en los espermatozoides y se cree que refleja la viabilidad y capacidad de fecundar al óvulo. Una muestra normal de semen debe tener más del 70% de los espermatozoides con movilidad vigorosa de avance.

CONCENTRACIÓN

La concentración o número de espermatozoides por eyaculado se determina al multiplicar el número de espermatozoides por mililitro de semen por el volumen total del recolectado. Los espermatozoides se pueden contabilizar con un espectrofotómetro calibrado, cámara de Coulter o hemocitómetro. En el perro adulto normal es de 200 millones hasta más de 1000 millones. El número de espermatozoides por eyaculado varía dependiendo, en parte, de la edad, el peso testicular, la actividad sexual y, tal vez, la estación del año. Las razas más grandes tienen una mayor concentración de espermatozoides que las pequeñas.

MORFOLOGÍA

Se estudian al microscopio frotis de eyaculado sin diluir en cuanto a anomalías estructurales de los espermatozoides. Se coloca una gota pequeña de semen fresco no diluido en una laminilla y se tapa con un cubreobjetos grande. La valoración de la morfología espermática debe concluirse al microscopio mediante inmersión en aceite. Se valoran los espermatozoides individuales en cuanto a anomalías que ocurren en la cabeza, la pieza media y la cola. Se pueden clasificar en primarias y secundarias. Los machos normales suelen tener más del 70 % de espermatozoides con morfología normal. Las anomalías primarias deben constituir menos del 10% y las secundarias menos del 20% de los espermatozoides defectuosos en el perro normal. Una tasa menor del 30% de defectos totales es un criterio normal razonable en la valoración de espermatozoides caninos (Macías, 2003).

1.2.4.6 FACTORES QUE AFECTAN LAS CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN

PUBERTAD

Los eyaculados iniciales de un perro después de que alcanza la pubertad a menudo contienen espermatozoides anormales y muertos. En los eyaculados subsecuentes, la concentración de espermatozoides aumenta, el número de anormales disminuye.

FRECUENCIA DE LA EYACULACIÓN

La frecuencia de la eyaculación tiene un efecto directo sobre el volumen del semen y la concentración de espermatozoides. Se ha demostrado un leve decremento en la cifra espermática total por eyaculado cuando se obtienen muestras una o dos veces al día, en comparación a dos o tres veces por semana.

ESTACIÓN DEL AÑO

La estación del año puede tener cierto efecto sobre la concentración de espermatozoides por eyaculado, que es mayor en la primavera y las primeras etapas del verano y menor en las etapas tardías del verano y el otoño. Aunque puede suponerse que el perro normal es fecundo sin importar la temporada o la temperatura ambiental.

TAMAÑO DE PRÓSTATA Y TESTÍCULOS

Se ha demostrado que el tamaño de estos tienen correlación directa con la producción diaria de espermatozoides (Macías, 2003).

1.2.4.7 INTERPRETACIÓN FINAL DEL SEMEN

Por desgracia, ninguna característica aislada de una valoración de semen, es por si misma, un parámetro preciso de la fecundidad. La valoración del semen solo es uno de los muchos factores a considerar cuando se estudia un macho. Las características que parecen correlacionarse de manera más estrecha con la fecundidad son: el número total de espermatozoides por eyaculado, el porcentaje de movilidad progresiva y la morfología espermática (Macías, 2003).

IMPORTANCIA DE LA FOSFATASA ALCALINA

En perros con azoospermia es necesario determinar la fosfatasa alcalina seminal, que se mide mediante el mismo método que la sérica. La fosfatasa alcalina se origina del epidídimo del perro. Las concentraciones seminales de fosfatasa alcalina suelen ser mayores de 5000 U/L en perros normospermicos (Johnston, 1991).

VALORACIÓN HORMONAL

Hay dos sistemas hormonales en el aparato reproductor del macho, uno que implica testosterona GnRH-hipofisiaria LH-testicular y el otro que implica inhibina GnRH-hipofisiaria FSH-testicular. La producción de espermatozoides maduros requieren la presencia de FSH y andrógenos masculinos, sobre todo testosterona dentro de los testículos. La secreción endógena de testosterona por parte de las células intersticiales de Leydig, actúa sobre los receptores de las células de Sertoli. También se requiere testosterona para mantener las actividades de secreción y absorción de los conductos eferentes, el epidídimo y el conducto deferente, para el crecimiento y mantenimiento de la próstata y para mantener la libido.

La sangre canina contiene testosterona de 2.3 a 3.0 ng/ml en sus niveles normales (Shirley, 2001) también en la sangre se encuentran sus precursores, incluidas androstendiona, deshidroepiandrosterona y 17-hidroxiprogesterona. La testosterona tiene un papel importante en el mantenimiento de la libido y de la espermatogénesis del macho. Aquellos con libido normal y capacidad de aparearse rara vez tienen concentraciones de testosterona plasmática inferiores a 0.4 ng/ml, independientemente de su fecundidad. Además las concentraciones testiculares de testosterona son 50 a 100 veces mayores que las sanguíneas, de modo que las plasmáticas no reflejan alteraciones de la testosterona testicular ni son un asistente diagnóstico útil para valorar la espermatogénesis (Olson, 1992).

1.3 ASPECTOS DE LA NUTRICIÓN CANINA

Los avances efectuados en Medicina Veterinaria han dado lugar a programas de vacunación que protegen a los perros frente a numerosas enfermedades infecciosas, así como a procedimientos médicos que contribuyen a alargar la vida de los animales de compañía. El progreso en el campo de la nutrición ha generado un mayor conocimiento en el campo de la dietética canina y en el desarrollo de dietas equilibradas para animales que contribuyen a mantener la salud y facilitan la prevención frente a enfermedades crónicas.

El competitivo mercado actual dispone de un amplio abanico de alimentos y suplementos nutricionales para perros. Estos productos se venden en tiendas de autoservicio y tiendas de animales, así como en clínicas veterinarias. Tales productos presentan una gran diversidad en cuanto a su composición en nutrientes, disponibilidad, digestibilidad y sabor, así como en su forma física, aroma y textura. Algunos alimentos están preparados para proporcionar una nutrición adecuada durante toda la vida del animal, y otros se han comercializado de forma específica para una fase determinada de su vida o para un estado patológico específico. Esta gran selección de productos comerciales, combinados con la propagación periódica de modas y mitos sobre nutrición, ha suscitado una confusión considerable, entre los propietarios y profesionales de los animales de compañía, en lo que respecta al cuidado nutricional de los perros. Un conocimiento básico de los fundamentos de la nutrición es un requisito previo imprescindible para poder evaluar los alimentos para animales y tomar las decisiones adecuadas al estado nutricional del animal. **El término nutrición se refiere a la ciencia que estudia la serie de procesos físicos y químicos que sufre un alimento por su paso en el tracto gastrointestinal, pasando por su ingestión, absorción, utilización y excreción.** Como todos los animales, los perros requieren una dieta equilibrada para crecer con normalidad y para conservar la salud durante su madurez. Los nutrientes son componentes de la dieta, con funciones específicas en el organismo, que contribuyen al crecimiento, mantenimiento de los tejidos corporales y a una salud óptima. Los nutrientes esenciales son los componentes que no pueden sintetizarse en el organismo con una rapidez suficiente para satisfacer sus demandas. Por este motivo, la dieta debe incluir estos nutrientes esenciales. Los nutrientes no esenciales pueden ser obtenidos por el organismo mediante una síntesis endógena o a través de la dieta. Junto con sus necesidades de energía, todos los animales requieren cinco principales de nutrientes: Hidratos de carbono, proteínas, lípidos, minerales y vitaminas. La energía, aunque no es un nutriente en sí, es necesaria para el crecimiento, mantenimiento, rendimiento reproductor y actividad física normal del organismo (Case, 1997). Muchas veces por disponibilidad o por mayor precio de los alimentos comerciales nos creamos una idea inadecuada que estos alimentos son mejores que los demás, estudios realizados en los alimentos llamadas Premium y en los que no son considerados así pero que están certificados han demostrado que no existe diferencia entre estos alimentos (Brown, 1997; Sanderson et al, 2005).

1.3.1 EI CONCEPTO ENERGÉTICO

El organismo es la cuna de incesantes reacciones químicas productoras o consumidoras de energía. Una gran parte de esta energía es disipada en forma de calor, en movimiento o en producción (leche por ejemplo). Considerando que existe una necesidad energética básica necesaria para el mantenimiento de la temperatura corporal y el desarrollo de las funciones normales (Cuadro 1). Esta necesidad energética debe ajustarse, según las condiciones en que se encuentre el animal, bien sea para luchar contra el frío, para el crecimiento, la reproducción, la actividad que realiza (Cuadro 2 y 3). Los nutrientes que aumentan la densidad energética son los lípidos, los carbohidratos (excluyendo la fibra) y las proteínas. Para necesidades elevadas, la oxidación de los ácidos grasos representa la esencia del aprovisionamiento energético: los lípidos se imponen por su cobertura. La energía puede medirse por su conversión en calor por medio de una bomba calorimétrica. Los lípidos generan 9,5 Kcal/g, Las proteínas: 5,6 Kcal/g y los carbohidratos: 4,5 Kcal/g, solo una parte de esta energía es utilizada por el organismo (Williams, 1999).

NECESIDADES ENERGÉTICAS DE MANTENIMIENTO (KCal/Día)

(Kronfeld. 1993)

(Razas pequeñas y medianas)	(Razas grandes)
$ENm = 132 \times *PV \wedge 0.73$	$ENm = 159 \times PV \wedge 0.67$

Cuadro 1.

*PV. Peso vivo del perro

EJEMPLOS DE VARIACIÓN EN NECESIDADES ENERGÉTICAS

Expresados en múltiplos de *ENm

(Kronfeld. 1993)

Mantenimiento	1.0	Mitad de Crecimiento	1.6
Trabajo (1 hora)	1.1	Fin de gestación	1.4
Galgos entrenamiento	1.2	Inicio de crecimiento	2.0
Final de crecimiento	1.25	cachorro destetado	2.5
Trabajo (1 día)	1.4	Lactación	2.4
Entrenamiento moderado (a 0 °C)	1.5	Perros de Trineo (en carreras).	2.4

Cuadro 2.

*ENm. Energía Neta metabolizable

Necesidades Energéticas durante el Crecimiento

Expresados en Múltiplos de *ENm

(Kronfeld. 1993)

Peso Adulto	1-10 Kg.	11-30 Kg.	31-60 Kg.	61-90 Kg.
de 1 a 2 meses	2.5	2.5	2.5	2.5
de 3 a 4 meses	2.0	2.0	2.0	2.0
de 5 a 7 meses	1.5	1.5	1.5	1.6
de 8 a 12 meses	1.0	1.2	1.3	1.4
de 12 a 18 meses	1.0	1.0	1.1	1.2

Cuadro 3.

*ENm. Energía Neta metabolizable

El consumo de la energía en la dieta y el metabolismo ejercen un profundo efecto sobre el sistema de comunicación neurohumoral, antes y después de la maduración sexual. Un patrón de la GnRH sobre las gonadotropinas es disminuirlas o aumentarlas, dependiendo de la dirección que tomen los cambios de la energía metabólica (Williams, 1999).

1.3.2 PROTEÍNAS

Las proteínas son macromoléculas constituidas por aminoácidos. Durante la digestión estos aminoácidos se liberan y pueden penetrar las paredes intestinales. Ellos son esencialmente utilizados por el anabolismo: síntesis de proteínas y de otras moléculas nitrogenadas. De los 25 aminoácidos que componen la proteína hay 12 que son indispensables para el perro y deben ser aportados en su alimentación para satisfacer las necesidades específicas de su organismo (Cuadro 4).

ZONA ÓPTIMA DE LAS NECESIDADES PROTEICAS (Kronfeld. 1989)

Estado	*PB/EM
Mantenimiento	14% a 65%
Crecimiento y Reproducción	25% a 50%
Actividad, Estrés	30% a 40%

Cuadro 4.

*PB/EM. Proteína Bruta/Energía Metabolizable

El exceso de proteínas en la dieta provoca algún tipo de falla en la reproducción (baja concepción, muerte embrionaria) pero sus efectos han sido de difícil investigación (Williams, 1999).

1.3.3 LÍPIDOS

Los lípidos esta formados por esteres de ácidos grasos y de glicerol, de cadenas de diversa longitud y más ó menos saturadas. Uno de ellos es esencial: el ácido linoleico (C18:2) y justifica un aporte específico en la alimentación. Por motivo de su alto contenido calórico, los lípidos determinan la densidad energética del alimento y al mismo tiempo contribuyen muy positivamente a mejorar la apetencia del mismo (Williams, 1999).

1.3.4 CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos son esencialmente nutrientes vegetales, los ingredientes de origen animal no contienen prácticamente cantidades apreciables. Sus elementos básicos son azúcares simples, la glucosa es el mayor constituyente de los almidones y de la celulosa. Ciertos carbohidratos son digeribles y utilizables por el organismo y otros son indigeribles pero sirven para facilitar el tránsito intestinal.

1.3.5 MINERALES

Los minerales representan una pequeña parte del peso vivo, sin embargo juegan un papel muy importante y su correcto aporte en las dietas debe ser vigilado cuidadosamente. No es solo importante asegurar el aporte de cada uno de ellos sino también evitar una dieta desequilibrada que pueda traer como consecuencia resultados nefastos, bien sea por la carencia de los mismos ó por las interacciones que existen entre ellos (Cuadro 5 y 6).

NECESIDADES DE CALCIO Y FÓSFORO (Kronfeld. 1993)

Recomendaciones de Calcio y fósforo (en %/MS)

ETAPA	Calcio	Fósforo
Crecimiento	1.2 a 1.6	0.9 a 1.2
Mantenimiento	0.9 a 1.8	0.7 a 1

Cuadro 5.

RECOMENDACIONES DE MICROELEMENTOS

(Kronfeld. 1989)

Mg/Kg de alimento	Mínimo	Máximo
Hierro (Fe)	240	820
Cobre (Cu)	20	80
Manganeso (Mn)	50	80
Zinc (Zn)	120	200
Yodo (I)	2,4	3,7
Selenio (Se)	0,2	0,8

Cuadro 6.

1.3.6 VITAMINAS

Las vitaminas son moléculas orgánicas indispensables para la vida y deben hallarse en los alimentos. La dosis necesarias son muy pequeñas en mg/Kg. (Cuadro 7). Se dividen clásicamente en dos grupos:

Vitaminas liposolubles: Vitaminas A, D, E y K

Vitaminas hidrosolubles Vitaminas del complejo B y la Vitamina C

La vitamina C no esta considerada indispensable para los perros y su suplementación sistemática no es necesaria aunque puede ser utilizada en situaciones específicas de estrés ó en casos de que se requieran de él, esfuerzos muy grandes ó para perros que sufran una disyunción hepática.

**RECOMENDACIONES DE LOS NIVELES DE VITAMINAS *UI
(Kronfeld 1993)**

Por Kg de alimento	Unidad	Mínimo	Máximo
Vit A	UI	4660	6600
Vit D3	UI	520	760
Vit E	mg	35	760
Vit K	mg	0	10
Vit C	mg	0	3670
Vit B1 (Tiamina)	mg	2	4
Vit B2 (Roboflavina)	mg	4	7
Niacina	mg	21	43
Ac.Pantoténico.	mg	19	39
Vit B6 (Piridoxina)	mg	2,1	4,3
Biotina	mg	0,13	0,27
Ac.Fólico	mg	0,4	0,8
Vit B12	mg	0,05	0,10

Cuadro 7.

***UI: Unidades Internacionales**

1.3.7 INFLUENCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA REPRODUCCIÓN DEL PERRO

Las deficiencias nutricionales probablemente afectan el sistema reproductivo antes que cualquier otro; el sistema reproductivo es esencial para la supervivencia de la especie y por consiguiente cuando existe una deficiencia nutricional, la reproducción reduce o elimina su actividad, para que el organismo conserve sus nutrientes (Threlfall y Lepine, 1996). Por esta razón el factor más limitante para el éxito reproductivo en los mamíferos domésticos es la nutrición. La habilidad del sistema reproductivo de responder a los cambios nutricionales, es críticamente importante para la sobrevivencia bajo los cambios de las condiciones ambientales (Williams, 1999). La etapa reproductiva en los perros es muy importante en cuanto a la nutrición, aunque existe gran diferencia entre la hembra reproductora y el macho reproductor. En el caso de la hembra requiere un estricto control nutricional para poder llevar a cabo todas sus funciones fisiológicas durante la gestación y

lactación. Sin embargo en el macho no existe una recomendación específica para su nutrición. Algunos consideran que las necesidades nutricionales de un perro que es utilizado para reproducción deben ser las mismas que para un perro que es de alto rendimiento en el trabajo que realiza.

1.3.8 IMPORTANCIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 Y 6

IMPORTANCIA DE LOS LÍPIDOS EN LA NUTRICIÓN DEL PERRO

La importancia de los lípidos en la nutrición y el desarrollo de los mamíferos es reconocida desde hace décadas. Los lípidos son constituyentes importantes de la estructura de las membranas celulares, cumplen funciones energéticas y de reserva metabólica, y forman la estructura básica de algunas hormonas y de las sales biliares (Sastry, 1985). Además, algunos lípidos tienen el carácter de esenciales debido a que no pueden ser sintetizados a partir de estructuras precursoras (Spector, 1999). Más aún, recientemente se ha identificado la participación de algunos lípidos en la regulación de la expresión génica en los mamíferos (Mata, 2000). Dentro de la gran diversidad estructural que caracteriza a los lípidos, los ácidos grasos son quizás las estructuras de mayor relevancia (Valenzuela y Nieto, 2003). Mientras las grasas en general tienen usos múltiples en el cuerpo, sus roles más significativos se ejercen en el cerebro, en las membranas celulares y como base de muchas sustancias similares a las hormonas que actúan como reguladores: ya sea aumentando o disminuyendo una amplia variedad de funciones metabólicas. Todas las membranas celulares del cuerpo están hechas de colesterol y grasas. Parte de la membrana usa colesterol y ácidos grasos saturados para mantener su forma. El resto de la membrana debe ser flexible y porosa para que los nutrientes puedan ingresar y los productos de desecho salir. Para esto el cuerpo usa grasas insaturadas (Simopoulos y Robinson, 1998).

EL APORTE DE ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos aportados en la alimentación cumplen dos funciones: No específica: La de abastecer de energía. Los ácidos grasos poli-insaturados mejoran la utilización de la energía. Sin embargo los ácidos grasos saturados con formación de cadenas largas son mal utilizados. Específica: Estructural. Fosfolípidos en membranas celulares y su funcionamiento. Precursores y mediadores entre hormonas y células (prostaglandinas) Los ácidos grasos poliinsaturados son esenciales para la realización de estas funciones. Las dos familias de ácidos grasos poli-insaturados que debemos considerar muy particularmente son: **La serie de " Omega 6 "**: El precursor es el ácido linoleico (18:2) se encuentra en mayor cantidad en los vegetales que en los productos animales, con excepción de la grasa de ave. Su carencia en el alimento de los

perros, acarrea en su piel una sequedad, aparición de escamas, caída del pelo y un pelo deslucido sin brillo. Es sin ninguna duda el factor nutritivo más importante para la salud del pelaje. La recomendación de la NRC 1985, es la de 2.5 % EM. Otra recomendación es del 4 al 6% EM ya que permite obtener mas fácilmente un pelo sano y con mayor lustre (Williams, 1999). En esta serie también se encuentra el ácido araquidónico aunque su función más importante esta relacionada con la síntesis de las prostaglandinas. Es un elemento indispensable en el alimento para gatos, debido a que estos animales están desprovistos del sistema enzimático que les permita obtenerlo a través del ácido linoleico. **La serie "Omega 3 "**: Su precursor es el ácido linolénico (18:3). Esta serie no es totalmente indispensable ya que se puede sintetizar a partir del ácido linoleico. No obstante y debido a la función metabólica que desarrollan en la integridad de las membranas celulares, en el funcionamiento del sistema nervioso y del sistema de inmunidad. Un aporte de ácidos grasos de esta serie es muy recomendado (aceite de pescado). Dependiendo de su origen las materias grasas tienen composiciones diferentes de ácidos grasos y no presentan la misma calidad nutricional (Cuadro 8).

CONTENIDO DE ÁCIDOS GRASOS EN LAS PRINCIPALES

MATERIAS GRASAS

(Kronfeld. 1993)

Tipo de ácido	Bovino	Porcino	Ave	Pescado	Soya
a.g.saturados	53 %	38 %	28 %	17 %	11 %
a.g.monosaturados	45 %	49 %	41 %	27 %	28 %
a.g. poli-insaturados	2,7 %	13 %	22 %	58 %	61 %
ácido.Linoleico	2 %	12 %	21 %	13 %	52 %

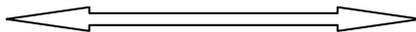
Cuadro 8.

METABOLISMO DE LOS ÁCIDOS GRASOS

Los lípidos simples son moléculas compuestas de ácidos grasos libres unidos a moléculas de glicerol. Los ácidos grasos se conocen como saturados e insaturados, los últimos esenciales porque el organismo no los puede sintetizar, sin embargo en la dieta independientemente que sean insaturados o no, las cadenas de ácidos grasos de hasta 20 átomos de carbono dependen de la capacidad de saturación y de mecanismos enzimáticos que elongan la cadena dependiendo de las necesidades del organismo. Los ácidos grasos omega 3 y 6 como alternativa en el tratamiento nutricional juegan un papel importante dentro de la fisiología tumoral. Una de las moléculas más importantes que es capaz de agregarse con las acilceramidas es el ácido linoleico. Los fosfolípidos son hidrolizados en ácidos grasos libres más ácido fosfórico, el colesterol se esterifica, y los esfingolípidos son convertidos en ceramidas, todos con la finalidad de formar la barrera lipídica de la piel. Los lípidos intercelulares contienen ciertamente fosfolípidos, sin embargo, son ricos también en ácidos grasos (del 15 al 25%), ceramidas (40 al 50 %), colesterol (20 a 25 %) y sulfato de colesterol (5 al 10%). Es aquí donde por ejemplo, la proporción de ácidos grasos omega 3 y 6 guarda estrecha relación con los mecanismos de inflamación de la piel, debido a su alta concentración en el tejido intercelular (Flores, 2002).

ÁCIDOS GRASOS OMEGA 3 Y 6.

En forma normal, y con base en múltiples recursos a los cuales se ha referido la importancia de los ácidos grasos en Medicina Veterinaria, y principalmente de pequeñas especies, se menciona lo siguiente. Si se ha comprendido en que sitios del estrato córneo se llevan a cabo las reacciones más importantes desde el punto de vista bioquímico relacionadas con los lípidos, observaremos por lo tanto, que los ácidos grasos son esenciales para dichas funciones. En la dieta de un perro "común y corriente" es de 8%, 15 % o el porcentaje de inclusión de grasa en el alimento esta representado principalmente por ácidos grasos. En forma natural, dichos ácidos son cadenas de átomos de carbono que se acumulan en forma de pares, es decir, el ácido graso más pequeño de todos es el que contenga 2 átomos de carbono, y en forma normal la cadena puede prolongarse hasta 22. Todos los ácidos grasos que consumen un perro o gato, pertenecen a la familia de los omega 6. La familia omega 6 se obtiene del consumo de maíz, principal ingrediente de las dietas balanceadas para pequeñas especies. Se les considera omega 6, debido a su estructura, contando desde el grupo metilo (CH₃) hacia el grupo carboxilo (COOH), la primer doble ligadura se encuentra en el carbono 6 y omega debido a que el último carbono de la molécula debe ser llamado de acuerdo a la ultima letra del alfabeto griego. Por ejemplo:



Los ácidos grasos de membrana así como los ácidos grasos intercelulares debido a su fuente de origen pertenecen a la familia de omega 6 y el más representativo de ellos es el ácido araquidónico de 20 átomos de carbono. Este ácido graso, en forma normal, cuando sucede una lesión de la membrana celular, o se han separado los estratos córneo y granuloso, se expone a dos rutas metabólicas importantes, que generan un fenómeno inflamatorio de distintos grados. Las rutas metabólicas son la intracelular (ciclooxigenasa-lipooxigenasa) y la extracelular (enzimas hidrolíticas).

Lipooxigenasa Ciclooxigenasa

Una vez que el ácido araquidónico es expuesto a la actividad de estas dos enzimas, puede seguir la ruta de Ciclooxigenasa, la cual da como lugar la formación de 3 eicosanoides o mediadores químicos de la inflamación. Las prostaglandinas, las prostaciclina y los tromboxanos. De estos, la PGG₂ y la PGH₂ se consideran precursoras de todos los demás eicosanoides, entre los que contamos son la PGH₃, la PGI₂, la PGE₂ y el TBXA₂. La PGE₂ es vasodilatadora en la piel y promueve entre otros eventos, la migración y acumulación de células inflamatorias.

La otra ruta metabólica incluye la actividad de 3 enzimas, la lipooxigenasa 5,12 y 15. Cuando la LO5 degrada al ácido araquidónico, los productos finales son el ácido 5 hidroxieicosatetraenoico, quien es precursor de leucotrienos A,B,C,D y E de la serie 4. En dermatología, el LTB₄ es el más importante de todos, debido a que estimula la quimiotaxis de neutrófilos, el transporte de calcio a nivel de membranas y la liberación de TBXA₂, para vasodilatar a este nivel y permitir la estancia prolongada de células inflamatorias. Por otro lado, la LO12 y LO15 dan lugar respectivamente a la formación de los ácidos 12 y 15 hidroxieicosatetraenoicos, quienes potencializan el efecto vasodilatador del área. Todos estos mediadores químicos son capaces de estimular la síntesis de ADN de los queratinocitos basales cuyo efecto promueve la vaso dilatación local y con ello incrementar el fenómeno inflamatorio (Flores, 2002).

Los ácidos grasos se dividen en dos grandes grupos según sus características estructurales: ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos insaturados (AGI). Estos últimos, dependiendo del grado de insaturación que posean se pueden clasificar como ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Ahora bien, dependiendo de la posición del doble enlace, contabilizando desde el carbono extremo al grupo funcional carboxílico, los AGMI y los AGPI pueden clasificarse en tres series principales: ácidos grasos omega-9 (primer doble enlace en el carbono 9), ácidos grasos omega-6 (primer doble enlace en el carbono 6) y ácidos grasos omega-3 (primer doble enlace en el carbono 3) Fig. 1. Los ácidos grasos omega-9 no son esenciales ya que los humanos podemos introducir una insaturación a un AGS en esa posición. De esta forma, el ácido oleico (C18:1, omega-9), por ejemplo, al cual se le atribuyen propiedades nutricionales beneficiosas (como componente del aceite de oliva), no

requiere estar presente en nuestra dieta. No ocurre lo mismo con los ácidos grasos omega-6 y omega-3, ya que nuestro organismo no puede introducir insaturaciones en dichas posiciones (Valenzuela y Nieto, 2003). Ácidos grasos como el ácido linoleico (C18:2, omega-6, AL) y el ácido alfa linolénico (C18:3, omega-3, ALN) sí son esenciales, por lo cual nuestra dieta requiere contenerlos en proporciones bien determinadas ya que su carencia o desbalance en la ingesta produce serias alteraciones metabólicas (Somopoulos, 1991).

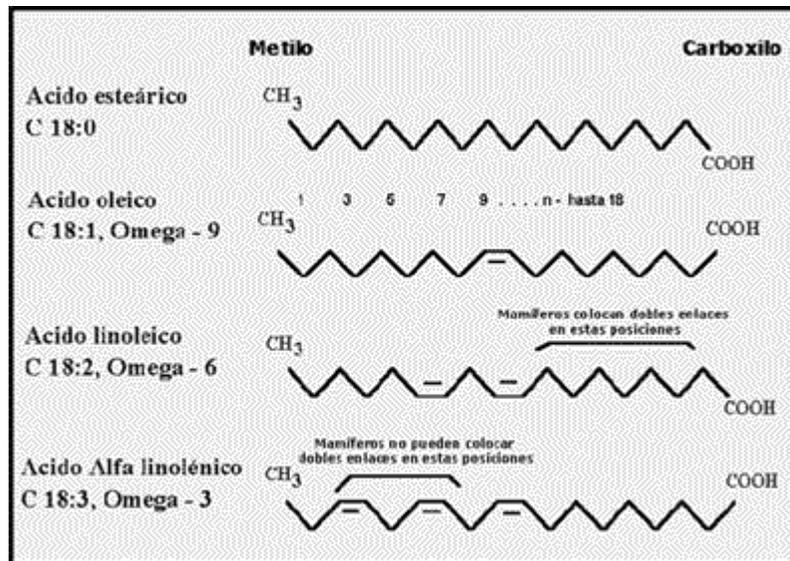


Figura 1. Familias de ácidos grasos omega-9, omega-6 y omega-3, y su nomenclatura. Tomado y adaptado de Valenzuela y Nieto, (2003).

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga omega-6; ácido araquidónico, y omega-3; ácido docosahexaenoico, son fundamentales en la formación de la estructura y en la funcionalidad del sistema nervioso y visual de los humanos. Ambos ácidos grasos constituyen más del 30% de la estructura lipídica del cerebro y de los conos y bastoncitos de la retina. Se estima que la función de estos ácidos grasos es aportar un alto grado de fluidez a las membranas celulares, permitiendo el movimiento de proteínas en su superficie y dentro de la bicapa lipídica. Estos ácidos grasos se forman a partir de precursores de menor tamaño de cadena: el ácido linoleico da origen al ácido araquidónico, y el ácido alfa linolénico al ácido docosahexaenoico. Esta transformación ocurre principalmente en el hígado. Actualmente se estima que el feto humano, durante el último tercio del período gestacional, y el recién nacido, durante los primeros 6 meses de vida, requieren de un gran aporte de ácido araquidónico y de ácido docosahexaenoico, debido a que la velocidad de transformación de los precursores a nivel hepático no es suficiente para cubrir los requerimientos metabólicos de estos ácidos grasos. Es la madre quien los aporta a través del transporte placentario durante la gestación y a través de la leche durante la

lactancia. Este aporte proviene de las reservas tisulares de la madre, de su actividad biosintética y del aporte nutricional de los ácidos grasos precursores. De esta forma, el adecuado aporte dietario de los ácidos grasos precursores o ya preformados es de vital importancia para la formación del tejido nervioso y visual. Se han observado alteraciones en la funcionalidad de estos tejidos en lactantes y niños que no han recibido un aporte adecuado de ácidos grasos omega-6 y omega-3 durante la gestación y en los primeros meses de vida.

Para algunas funciones metabólicas y también estructurales, se requieren ácidos grasos poliinsaturados de mayor número de carbonos. A estos ácidos grasos se les identifica como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) y son formados en el organismo a partir de ácidos grasos precursores, ya sea de la serie omega-6 u omega-3, los que son sometidos a procesos de elongación y de desaturación, particularmente en el hígado. De esta forma el AL puede dar origen al ácido araquidónico (C20:4, omega-6, AA) un AGPICL de gran importancia en el desarrollo neonatal. Del mismo modo, el ALN da origen al ácido eicosapentaenoico (C20:5, omega-3, EPA) y al ácido docosahexaenoico (C22:6, omega-3, DHA), los cuales, al igual que el AA, tienen importantes funciones metabólicas y reguladoras. De estos ácidos grasos, el DHA es el AGPICL de mayor importancia en el desarrollo neonatal (Sellmayer y Koletzko, 1999). El proceso bioquímico de elongación y de desaturación del AL y del ALN es realizado por enzimas localizadas en el retículo endoplasmático y en los peroxisomas de las células hepáticas (Sprecher et al, 1995). Por lo cual la actividad de este organelo adquiere gran importancia en la formación de los AGPICL. La Fig. 2. resume la transformación del AL y del ALN en los respectivos AGPICL.

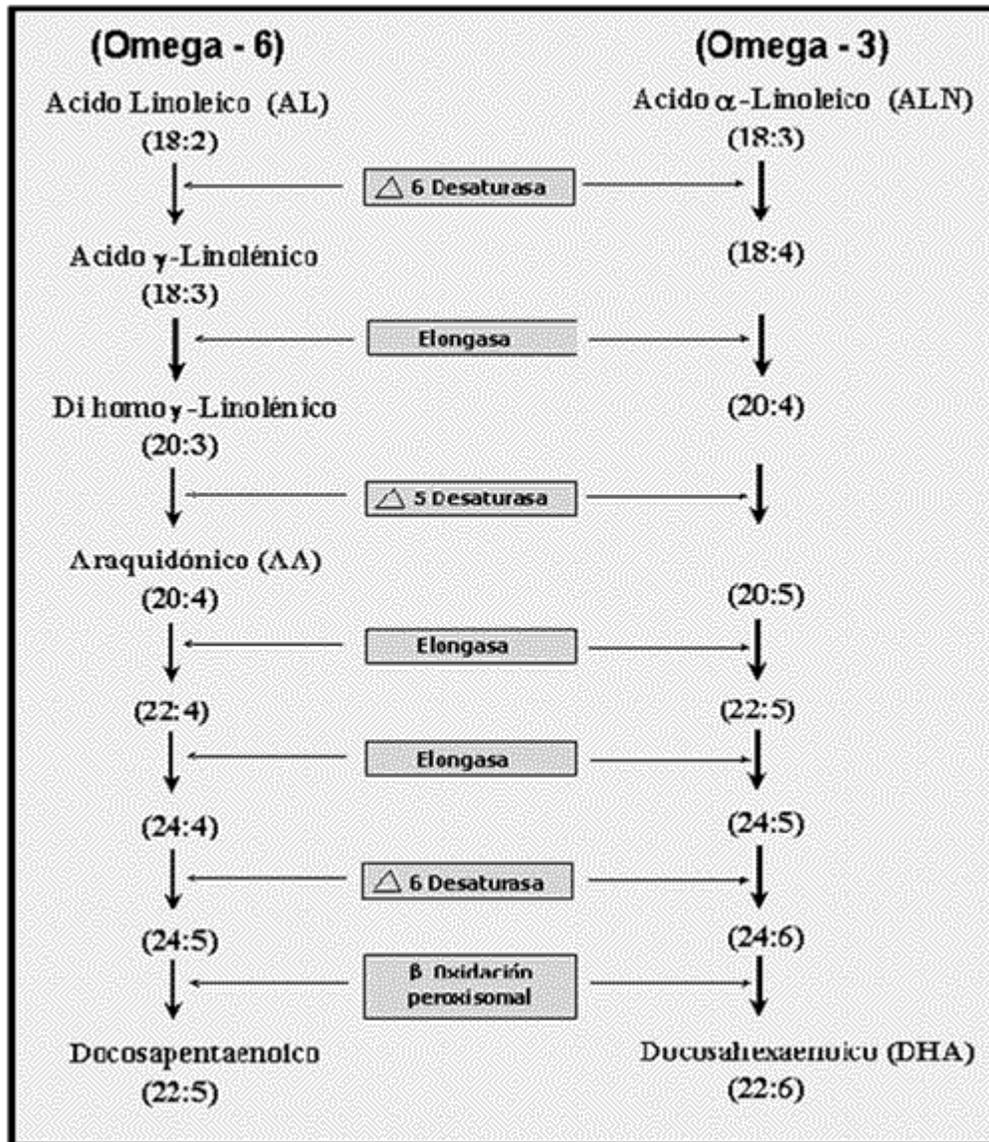


Figura 2. Transformación de ácido linoleico (AL) en AA y ácido alfa linolénico (ALN) en DHA. Tomado y adaptado de Valenzuela y nieto, (2003).

1.3.9 OTRAS CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS DE LOS OMEGAS 3 Y 6

Además de su valor a nivel de membranas celulares, el ácido graso omega-3 juega un rol importante en la regulación de procesos metabólicos.

Los Eicosanoides son hormonas de acción local. Ellas actúan regulando los procesos tisulares, aumentando o disminuyendo según la necesidad las acciones metabólicas a nivel celular.

Los Eicosanoides han sido descubiertos recientemente a causa de que su acción es localizada a nivel tisular donde se desarrollan más que originada en un glándula específica, tal como sucede con el páncreas o adrenales.

Los Eicosanoides están compuestos totalmente de los ácidos grasos omega-3 y 6. Los Eicosanoides vienen en pares: uno incrementa y el otro disminuye una determinada función corporal, regulándola. Cuando los omega-3 están en déficit en la dieta, el cuerpo produce menos de uno de estos pares, de modo que el termostato no regula correctamente.

Muchas de las enfermedades crónicas de hoy en día están relacionadas con el desbalance producido por el déficit de aporte de omega-6 y omega-3.

Altos niveles de omega-6 produce tendencia a incrementar el riesgo de enfermedades inflamatorias y auto-inmunes como la artritis reumatoide, lupus, psoriasis, colitis ulcerativa, osteoporosis, asma, y Alzheimer, o hacen éstos problemas más difícil de tratar (Simopoulos y Robinson, 1998). Al suplementar ácidos grasos omega 3 establecemos un mecanismo de competencia entre estos y los omega 6 por un complejo enzimático que incluye a la 6 desaturasa, malonil CoA, 9 desaturasa y 4 desaturasa. En condiciones normales estas enzimas catalizan la reacción de elongación de ácidos grasos para acoplarlos a la membrana celular como moléculas de 20 átomos de carbono. Como los ácidos grasos omega 3 no se encuentran en los ingredientes típicos de formulación de raciones ni tampoco en las caseras, la formación de ácido araquidónico se convierte en algo inevitable. De esta forma, cuando en la dieta incluimos ingredientes que contienen ácidos grasos omega 3 como aceite de peces de agua fría, algunas variedades de soya, y algunas variedades de algas marinas, y se lograra una proporción aproximada de 5:1 a 10:1 de ácidos grasos omega 6 y 3 respectivamente, es suficiente para que compitan por el complejo enzimático aún cuando exista menor cantidad de ácidos grasos omega 3. El ácido graso precursor del araquidónico, y que tiene 18 átomos de carbono, y pertenece a la secuencia de omega 6 es el linoleico. Así mismo, los omega 3 también tiene un ácido graso precursor de 18 átomos de carbono que se llama linolénico y que da lugar a la formación del ácido graso eicosapentaenoico, de 20 átomos de carbono. Este ácido graso es el equivalente del araquidónico,

solamente que pertenecen a dos familias distintas. Los efectos fisiológicos que se originan como consecuencia de un ácido graso u otro son muy diferentes, lo que deriva en la importancia de reconocer cual es más benéfico para la piel. La dosis de ácidos grasos aunque en muchos textos no se ha confirmado, se recomienda aproximadamente de 40 mg por Kg de peso de ácido eicosapentaenoico y 25 mg por Kg de peso de ácido docosahexaenoico cada 24 horas. Con ésta dosis, no importa cuantos mg. de omega 6 consuma el paciente, lo cierto es que se mantiene la proporción fisiológica antiinflamatoria discutida anteriormente (Flores, 2002).

Efectos benéficos generales de los ácidos grasos Omega 3 Y 6

Reducen el riesgo de enfermedad cardiaca y adelgazan la sangre ayudando a mantener las arterias elásticas y flexibles. Reducen la presión sanguínea y mantienen los triglicéridos bajos.

Reducen el riesgo de coágulos sanguíneos. Los Omega-6 basados en los tromboxanos ayudan en la coagulación, la cual detiene el sangrado producido por injurias. Los Omega-3 mantienen reprimida la acción de los tromboxanos previniendo trombos que puedan causar infarto, Tromboembolismo Pulmonar.

Descienden la presión sanguínea, los Tromboxanos también contraen las arterias, aumentando la presión arterial. Los Omega-3 mantiene la acción del tromboxano reprimida.

Reducen las enfermedades inflamatorias. Los Omega-3 son naturalmente agentes antiinflamatorios, ellos actúan previniendo o reduciendo síntomas de la artritis, migraña, dolores menstruales y asma.

El omega-3 es útil para la retina en sí misma y para el aporte sanguíneo capilar en la misma.

El cerebro y el humor: el Omega-3 es un importante constituyente del cerebro, especialmente el DHA.

Cáncer: Omega-3 reduce el riesgo de contraer cáncer. Favorece el sistema inmune el cual es la barrera defensiva primaria. Omega-3 es útil para dificultar las metástasis de los tumores.

Reduce el riesgo de osteoporosis. Los huesos son tejidos vivos, constantemente se están resorbiendo y reconstruyendo. Los Eicosanoides ayudan a regular el balance de los osteoclastos y osteoblastos. Los investigadores indican que niveles saludables de omega-3 contribuyen a la reconstrucción ósea.

Otras condiciones de salud son beneficiadas en humanos por la ingesta de omega-3, como la piel seca (uno de los tres primeros signos de deficiencia de omega-3), alergias, síntomas de la menopausia, vulnerabilidad al glaucoma, degeneración macular y enfermedad crónica inflamatoria del intestino. (Simopoulos y Robinson, 1998).

1.3.10 NECESIDADES DIETÉTICAS DE ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES

La demanda de AGE del perro suele expresarse en términos de contenido de ácido linoleico, debido a que la necesidad fisiológica que tiene el perro de AGE puede satisfacerse mediante la cantidad suficiente de ácido linoleico en la dieta. Además la importancia práctica de expresar la demanda de este modo estriba en que el ácido linoleico es el AGE más prevalente en la mayoría de los alimentos. El National Research Council (NRC) y la Association of American Feed Control Officials (AFFCO) Canine Nutrient Profile recomiendan que la dieta canina para mantenimiento del perro adulto proporcione un mínimo del 1% del peso seco como ácido linoleico y un 5% de grasa total. Las recomendaciones de la AFFCO sugieren que este nivel debe aumentar hasta un 8% de grasas totales durante los periodos de crecimiento y reproducción (Case et al, 1997).

DEFICIENCIAS Y EXCESOS DE AGE

El contenido graso influye, en gran medida, en el sabor de la dieta para perros y gatos. Hasta un cierto límite, un aumento de la cantidad de grasas ocasiona un mejor sabor. De modo similar, un descenso del contenido graso por debajo de un determinado nivel reduce la aceptación de la dieta. En los perros, la deficiencia de AGE provoca un pelaje seco y deslustrado, pérdida de pelo y el desarrollo final de lesiones cutáneas. La deficiencia de ácido linoleico en los gatos provoca unos signos dermatológicos similares. Además los gatos no crecerán con normalidad, y desarrollarán una degeneración grasa del hígado, depósitos lipídicos en los riñones y fallas reproductivas (MacDonald et al, 1984).

Las deficiencias de AGE no son frecuentes en perros ni en gatos. Estas deficiencias se desarrollan únicamente tras un periodo prolongado. Cuando se manifiestan, las deficiencias suelen asociarse al consumo de dietas mal formuladas o almacenadas de forma incorrecta. Aunque los alimentos preparados comerciales no suelen provocar deficiencia de lípidos y de AGE, numerosos propietarios de animales de compañía creen que suplementando la dieta con aceite de maíz o algún otro tipo de grasa mejorará la calidad del pelaje. Este complemento únicamente será eficaz si el animal padece, en realidad, una deficiencia de lípidos o de los AGE. Es posible que la simple adición de una fuente de AGE a una dieta deficiente no solucione el déficit de AGE y potencialmente, pueda desequilibrar todavía más una dieta ya de por sí inadecuada. La ingesta excesiva de lípidos puede también ser nociva para la salud del animal. Tanto los

perros como los gatos son capaces de digerir y asimilar los alimentos que contienen altos niveles de grasa, sin embargo, el suministro de una cantidad de grasa superior a la que el tracto gastrointestinal puede digerir y absorber con eficacia ocasionará heces grasientas y diarrea. Además, el consumo a largo plazo de alimentos con contenido elevado de lípidos puede conducir a un aumento de peso y obesidad. Por último, la presencia de niveles excesivos de ácidos grasos poliinsaturados en la dieta provoca un aumento de las necesidades de vitamina E de un animal (Case et al, 1997).

CAPITULO 2

“TRIUNFAR EN LA VIDA ES HACER TRIUNFAR A LOS DEMÁS”

CAPITULO 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 LUGAR Y CONDICIONES AMBIENTALES PARA LA FASE DE EXPERIMENTACIÓN

Esta fase de la investigación se realizó en el Bo. Xaltocan de la delegación Xochimilco ubicada a 23 km al sur de la ciudad de México. A 2240 msnm Latitud 19° 15' Longitud 99° 05' y con una Temperatura de 15.9 °C promedio anual (GDF, 2006). El periodo de experimentación fue de octubre de 2005 a marzo de 2006.

Los miembros de cada uno de los grupos fueron alojados en jaulas de 2.25 m² (1.5*1.5 m.) con un diseño en herrería y completamente techadas, con piso de concreto y con ventilación adecuada (Fig. 3). Todos los perros permanecieron en estas instalaciones por el tiempo que duró la fase de experimentación (6 meses).



Figura 3. Instalaciones

2.1.1 SELECCIÓN DE LOS ANIMALES

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE PERROS

SEXO: Machos.

EDAD: Adultos en etapa reproductiva (2 a 6 años).

TALLA: mediana y grande.

RAZA: Puras y Criolla.

Todos los perros incluidos para la investigación fueron clínicamente sanos en el momento de la selección. Se realizó formatos especiales para reportar los datos principales de cada perro en cada uno de los muestreos. Apéndice 4 y 5.

2.1.2 MANEJO DE LOS ANIMALES

Los perros integrados a la investigación fueron donados por gente que los tenían en su casa como animales de compañía. Una vez realizado el examen clínico y confirmado en estado de salud sano se procedió a la desparasitación y a la vacunación contra el virus de la rabia de cada uno de los perros sin excepción. Durante el tiempo que duró el tratamiento los perros fueron alimentados dos veces al día. A cada uno de los perros se les dio libertad durante 10 minutos cada día.

2.1.3 TRATAMIENTO

GRUPO CONTROL O TESTIGO

Durante esta etapa de 6 meses se suministró una dieta comercial (Proplan adulto) con las concentraciones de 6.6 mg. de omega 3 y 72 mg de omega 6, para un grupo de 6 perros adultos (2 a 6 años) el cual fue llamado grupo "control".

GRUPO "1" O SUPLEMENTADO

Se suministró la misma dieta comercial con la concentración de omegas propia de la formula, la cual fue suplementada con ácidos grasos Omega 3 y 6 en la dosis de 124 mg y 92 mg (una capsula) respectivamente para otro grupo de 6 perros adultos llamado Grupo "1".

GRUPO "2" O DOBLEMENTE SUPLEMENTADO

Se suministró la misma dieta con la concentración de omegas propia de la formula para un tercer grupo de 6 perros, y fue doblemente suplementada con 248 mg. y 184 mg (dos capsulas) de omega 3 y 6 respectivamente.

La cantidad de alimento proporcionado a cada animal al día fue calculado según su peso corporal.

El suplemento de omega 3 y 6 utilizado tiene el nombre comercial de Multi-óil de GNC. Y su formula no incluye ningún tipo de minerales o vitaminas (Tabla 2).

FORMULA Multi-Oil

Tamaño de porción: 3 capsulas.

Porciones por envase: 40

CANTIDAD	POR 100 g.	POR PORCIÓN
CONT. ENERGETICO	676 kcal	15 Kcal
PROTEÍNAS	0 g.	0 g.
GRASA	67.6 g.	1.5 g.
SODIO	0 g.	0 g.
CARBOHIDRATOS	0 g.	0 g.
EPA	8108 mg.	180 mg.
DHA	5405 mg.	120 mg.
ACIDO LINOLEICO	10270 mg.	228 mg.
A. ALFA LINOLÉICO	3198 mg.	71 mg.
A. GAMMA LINOLEICO	2162 mg.	48 mg.

Tabla 2. Información nutrimental del suplemento Multi-Oil.

2.1.4 TOMA DE MUESTRA

Se realizó una vez por mes (6 meses), además de un muestreo preliminar al inicio de la investigación, en total fueron 7 muestreos. Todos los resultados obtenidos en los muestreos están reportados en los anexos del I al VIII.

DE SEMEN

Se obtuvo semen por medio de la técnica manual (Masturbación), y se evaluaron las características seminales; Concentración, movilidad progresiva, volumen, anormalidades espermáticas y daño acrosomal. Para anormalidades y daño acrosomal se realizó la técnica de triple tinción según Talbot y Chacon, (1980).

DE SANGRE

A través de la vena radial y con tubos vacutainer con gel acelerador de la coagulación y después de desinfectar la zona de punción se obtuvo 6 ml. de sangre de cada uno de los perros para cada muestreo. Posteriormente se extrajo el suero de las muestras de sangre por centrifugación a razón de 2500 rpm. durante 10 minutos y se depositó en tubo de centrifuga tipo eppendorf de 1.5 ml. Para su conservación a -20 °C hasta el momento del análisis de esteroides (Figura 4).



Figura 4. Toma de muestra de sangre

2.2 EVALUACIÓN SEMINAL

2.2.1 COLECCIÓN DE SEMEN

En cada uno de los muestreos se obtuvo el semen a través de la técnica de manipulación digital (masturbación) que consiste en la aplicación de un masaje suave con la mano enguantada sobre el prepucio hasta que el bulbo peneano empieza a aumentar de tamaño, que es la fase de erección. Posteriormente se recorre el prepucio para dejar expuesto el pene y el bulbo, posteriormente se gira el pene 180° hacia atrás, aplicando estímulos pulsátiles alrededor y por detrás del bulbo peneano con el objeto de simular el abotonamiento que ocurre en una monta natural dando como resultado la excitación del macho. El pene se dirige hacia el cono de látex el cual tiene en la parte inferior un tubo recolector (Figura 5).



Figura 5. Toma de muestra de semen

2.2.2 ANÁLISIS MACROSCÓPICO

Consiste en la evaluación de parámetros que pueden ser medidos sin la necesidad de instrumentos sofisticados debido a que son características físicas tales como volumen, color, olor, además de la determinación del pH (Olson, 1992).

Volumen

Una vez colectado el semen se midió el volumen del eyaculado total en un tubo de plástico graduado en ml. (Figura 6).



Figura 6.

Olor

Esta característica puede definir algún problema en el eyaculado, tomando como parámetro que el semen de perro carece de olor. Una vez obtenido el eyaculado se tomo en cuenta esta característica para establecer si estaba normal o no.

Color

Ya con el eyaculado completo se evaluó el color del mismo, considerando normal el blanco o grisáceo. (Figura 7).



Figura 7.

pH

Una vez obtenido el eyaculado completo se determinó el pH con tiras reactivas de la marca Baker-pHIX 0 a 14. Se sumergió la tira reactiva en el eyaculado y luego se comparó con el catalogo de evaluación (Figura 8).



Figura 8.

2.2.3 ANÁLISIS MICROSCÓPICO

Consiste en evaluar características como movilidad, concentración y morfología las cuales requieren del apoyo de un microscopio y técnicas de apoyo mas o menos complejas (Olson, 1992).

Movilidad

Inmediatamente después de obtener el eyaculado se tomó una pequeña muestra de semen con una pipeta Pasteur y se colocó una gota sobre un portaobjetos y se le colocó un cubreobjetos para poder realizar la evaluación en microscopio bajo el objetivo de 10X. La movilidad espermática se midió en porcentaje de células viables y progresivas (Figura 9).



Figura 9.

Concentración

Se tomó una muestra de semen de 25 μ l diluidos en 500 μ l de tritón al 0.1 % para la fijación de las células espermáticas. Se colocó una gota de la muestra en el hematocitómetro y se observó bajo el objetivo de 10 X para el conteo de las células (Figura 10).

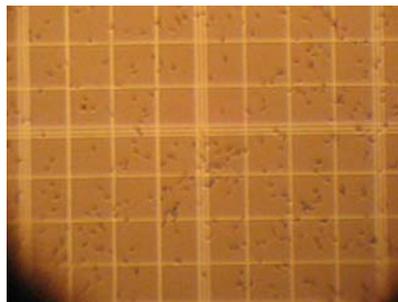


Figura 10.

Morfología

Para poder evaluar la morfología espermática así como la integridad acrosomal se realizó la técnica de la triple tinción Talbot y Chacon (1980). Ver figura 12 y técnica en Apéndice 6.

La morfología espermática se midió en porcentaje de células normales y anormales (cabeza, pieza media y cola). Figura 11. Todos los datos de morfología están reportados en anexos del I al VII y Apéndices 1 a 3.

La integridad del acrosoma se midió en porcentaje de células con daño o sin daño de esta estructura celular. Todos los datos del daño acrosomal están reportados en anexos del I al VII y Apéndice 3.

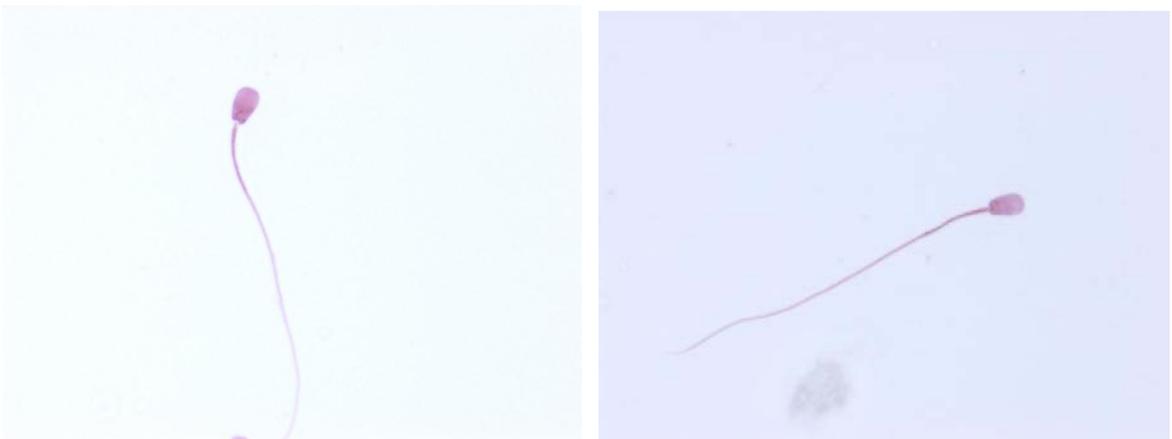


Figura 11. Células espermáticas normales.

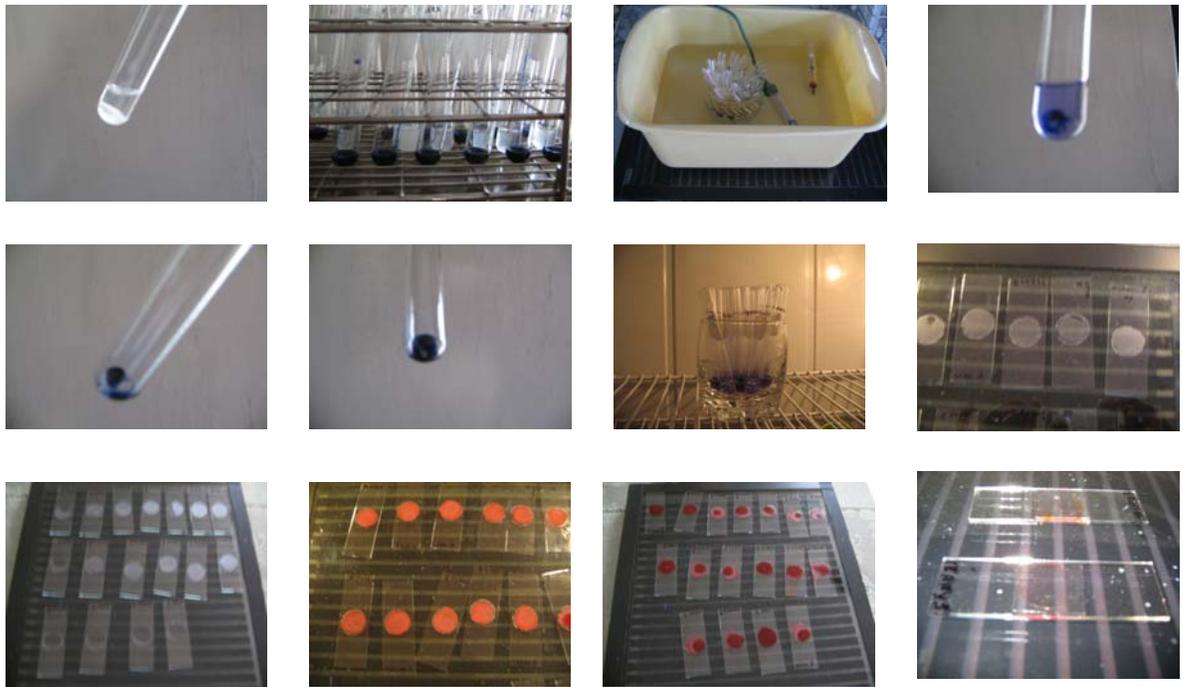


Figura 12. Metodología de la triple tinción.

INTERPRETACIÓN DE LA TRIPLE TINCIÓN

CABEZA ROSA-AZUL: ESPERMATOZOIDES MUERTOS CON ACROSOMA INTACTO.

CABEZA BLANCA-AZUL: ESPERMATOZOIDES MUERTOS SIN ACROSOMA.

CABEZA ROSA-CAFÉ: ESPERMATOZOIDES VIVOS CON ACROSOMA INTACTO.

CABEZA BLANCA-CAFÉ: ESPERMATOZOIDES VIVOS CON REACCIÓN ACROSOMAL.

2.3 ANALISIS DE METABOLITOS HORMONALES

2.3.1 TESTOSTERONA

Se evaluó la concentración de testosterona en suero sanguíneo, por la técnica de Radioinmunoanálisis (RIA) contando con la participación del laboratorio de Fisiología II del Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), a cargo de la Dra. Marta Romano.

2.3.2 RADIOINMUNOANÁLISIS (RIA)

Todas las muestras de suero se conservaron a -20°C hasta el final del tratamiento, se realizó la extracción de esteroides y luego el RIA con Tritio, de acuerdo al protocolo que se sigue en el laboratorio de Fisiología II del CINVESTAV. Ya extraídos los esteroides de cada una de las muestras se procedió al Radioinmunoanálisis (RIA).

PROCEDIMIENTO DEL RIA

Con 100 μl de muestra, 100 μl de anticuerpo, 50 μl de hormona radioactiva marcada con Tritio, 500 μl de carbón activado al 0.4 % y 5 ml. de líquido de centelleo se realizó la prueba para todas las muestras. Bajo un protocolo bien establecido se mezclaron la muestra, el anticuerpo y la marca radioactiva, luego se incubaron a 4°C en una cámara fría durante 24 horas. Después la reacción se detuvo agregando carbón activado a la muestra y se agita por 20 min, se deja reposar la reacción por 10 min. y luego se centrifuga a 4°C durante 20 min. Esto permitió separar el carbón activado, el cual contiene hormona libre (radioactiva y no radioactiva), y del sobrenadante que contenía la hormona unida al anticuerpo. El sobrenadante se decantó en viales de vidrio en los cuales luego se agregó líquido de centelleo. Los viales con solución radioactiva (extracto de muestra, anticuerpo específico, marcador radioactivo, líquido de centelleo), y sus controles respectivos (cuentas totales, unión total y unión inespecífica) fueron llevados al contador de centelleo marca Beckman LS 6000 TA, para radiaciones beta, durante un minuto por vial, y así obtener las cuentas por minuto de las muestras y luego cuantificar la cantidad de hormona.

2.3.3 VALIDACIÓN DEL RIA

La validación a través de la curva dosis-respuesta cercana a uno y el paralelismo entre las diluciones seriadas de la muestra y la curva estándar del ensayo, solo indica que la prueba esta cuantificando un metabolito de un esteroide, pero no señala si hay o no cambios en la concentración de los metabolitos hormonales.

El paso más importante para asegurar la eficacia de un sistema de evaluación de esteroides a partir de muestras de suero, orina o heces, consiste en establecer la relevancia fisiológica de los componentes que se están evaluando. La forma más directa de establecer la relevancia fisiológica es el obtener el suero y comparar los cambios longitudinales en los niveles de esteroides circulantes y sus metabolitos (Brousset et al, 2005).

2.4 EVALUACIÓN DEL EPITELIO SEMINÍFERO

Para poder evaluar el estado del epitelio seminífero se realizó la orquidectomía bilateral de todos los perros al final del tratamiento.

La orquidectomía se realizó bajo anestesia general e inmediatamente después se tomó una muestra de 1 cm² de cada testículo y se colocó en formol al 10 % para su posterior inclusión en PARAFINA. De la misma forma se tomó 3 muestras de cada testículo de 2 mm² y se colocaron en solución Karnovsky para su posterior inclusión en EPON. Figura 15.

Para la evaluación del epitelio seminífero, una vez obtenidas las muestras se procesaron para su inclusión en PARAFINA y EPON bajo las técnicas utilizadas en el laboratorio de Histopatología del INP a cargo de la Dra. Rosa Maria Viguera. Ver técnica Apéndice 7.

Epitelio seminífero sano (Figura 13). Epitelio seminífero dañado (Figura 14). Y finalmente se evaluó el daño del epitelio bajo el índice histopatológico (IHP) sugerido por Viguera, (2006) Figura 16.

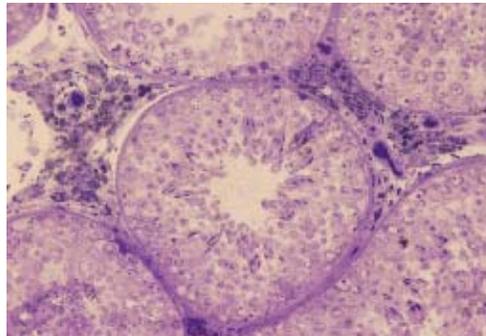
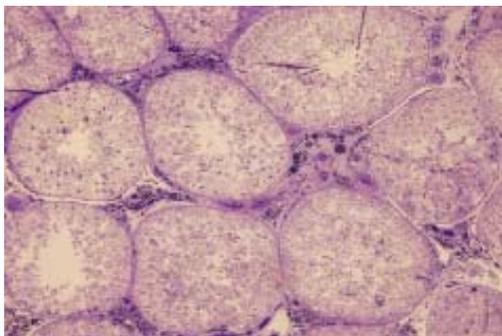


Figura 13. Epitelio seminífero sano de los perros del grupo control. Fotos 20X y 60X.

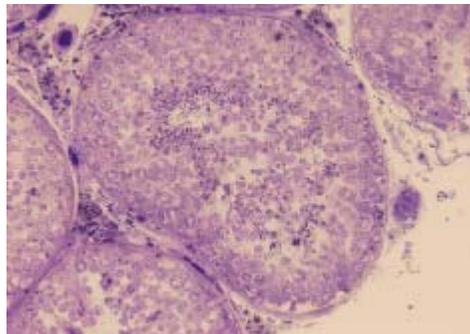
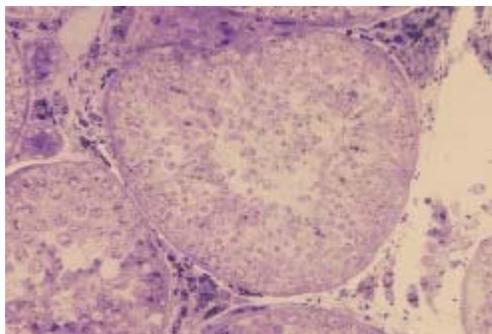


Figura 14. Epitelio seminífero dañado de los perros del grupo 2. Fotos 60X.



Figura 15.

EVALUACIÓN DEL EPITELIO SEMINÍFERO A TRAVÉS DEL ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO (IHP)

Alteraciones histológicas

- A) Plegamiento de lámina basal
- B) Descamación celular
- C) Vacuolización epitelial
- D) Sincitio celular
- E) Picnosis
- F) Tubos sin espermátides
- G) Tubos sin espermatoцитos
- H) Tubos sin espermatoгонias
- I) Ausencia de todo tipo celular

Puntaje

- 1
- 1
- 2
- 2
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6

ALTERACIONES HISTOLÓGICAS SEGÚN EL IHP

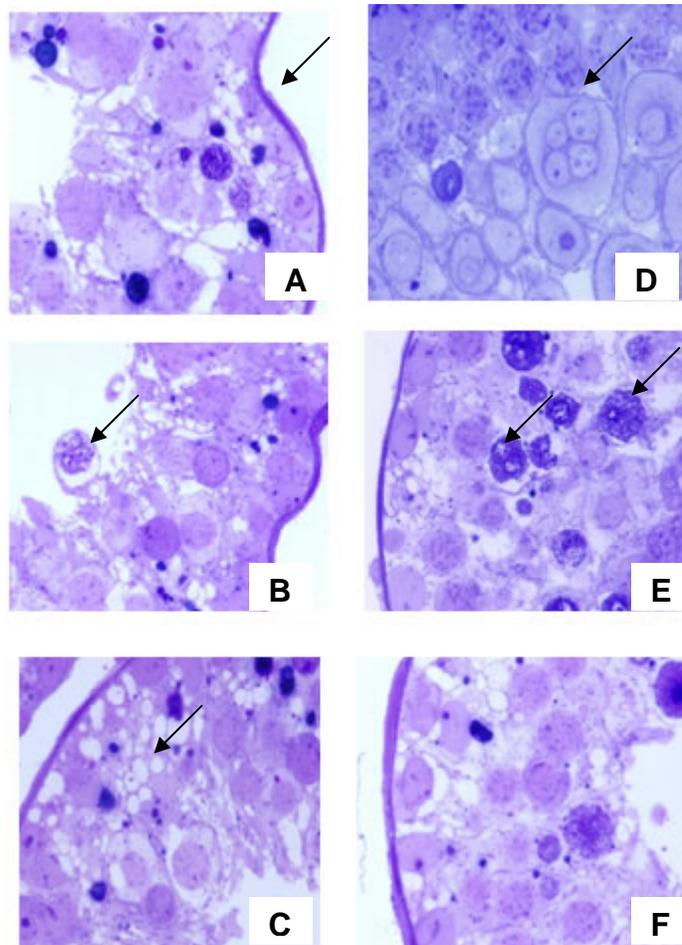


Figura 16. Índice Histopatológico

2.5 APLICACIÓN DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se aplicó análisis discriminante al conjunto de variables de interés para esta investigación, considerando los datos obtenidos al inicio, a la mitad y al final del tratamiento.

Se aplicó análisis de T-Student solo para las variables de Testosterona y Daño Histológico en cada uno de los muestreos de la investigación.

Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) a todas las variables consideradas en esta investigación y en cada uno de los muestreos, incluyendo el análisis a los promedios obtenidos al final del tratamiento.

CAPITULO 3

“VIVIR NO ES SÓLO EXISTIR, SINO EXISTIR Y CREAR”

CAPITULO 3. RESULTADOS

En este capítulo se describen los resultados obtenidos después de la evaluación realizada a cada una de las variables que tienen mayor importancia en nuestro estudio: Volumen del eyaculado, movilidad, concentración y morfología espermática normal, concentración de T4, así como el daño acrosomal y el daño del epitelio seminífero. El Cuadro General presenta la media, desviación estándar y diferencia estadística de cada una de las variables al inicio y al final del tratamiento. Se explicarán los resultados de cada una de estas variables durante todos los muestreos de forma individual.

En el caso de las variables macroscópicas sólo se explica el volumen del eyaculado, no así color, olor y pH por haber sido invariables en todos los muestreos. Los análisis estadísticos de las variables mencionadas se describen en el siguiente capítulo.

CUADRO GENERAL

VARIABLE	AL INICIO DEL TRATAMIENTO	AL FINAL DEL TRATAMIENTO
VOLUMEN DEL EYACULADO		
GRUPO CONTROL	4.9±4 ^a	7.6±5 ^a
GRUPO 1	3.7±2 ^a	3.3±3 ^b
GRUPO 2	11.3±6 ^b	6.5±4 ^a
CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA		
GRUPO CONTROL	139±62 ^a	190±64 ^a
GRUPO 1	152±52 ^a	143±55 ^a
GRUPO 2	199±36 ^a	179±70 ^a
MOVILIDAD ESPERMÁTICA		
GRUPO CONTROL	80±15 ^a	91±4 ^a
GRUPO 1	87±4 ^a	89±4 ^a
GRUPO 2	89±7 ^a	90±4 ^a
ESPERMATOZOIDES NORMALES		
GRUPO CONTROL	75±30 ^a	84±10 ^a
GRUPO 1	89±6 ^a	73±25 ^a
GRUPO 2	86±17 ^a	78±20 ^a
ACROSOMAS NORMALES		
GRUPO CONTROL	85±19 ^a	94±4 ^a
GRUPO 1	94±4 ^a	92±3 ^a
GRUPO 2	93±6 ^a	93±3 ^a
CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA		
GRUPO CONTROL	470±49 ^a	635±148 ^{ab}
GRUPO 1	608±109 ^a	666±128 ^a
GRUPO 2	505±113 ^a	433±79 ^b
DAÑO DEL EPITELIO SEMINÍFERO		
GRUPO CONTROL		1.50±.32 ^a
GRUPO 1		1.55±.25 ^a
GRUPO 2		2.25±.21 ^b

a, b diferencias estadísticas a una P < 0.05

3.1 EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

3.1.1 VOLUMEN DEL EYACULADO

El volumen del eyaculado es una variable macroscópica que fue medida en mililitros (ml) al momento de la eyaculación. El cuadro 9 y la gráfica 1 incluyen todos los promedios, desviaciones estándar y diferencia estadística por grupo en cada uno de los muestreos realizados. En el muestreo uno los valores del grupo 2 estuvieron muy arriba de los otros dos grupos. En los últimos dos muestreos (5 y 6) el volumen del grupo control fue ligeramente mayor que el de los grupos suplementados con omega 3 y 6. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en algunos de los muestreos y al final del tratamiento según el análisis de varianza (ver Anexo XXVI).

VOLUMEN DEL EYACULADO INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (ml)							
TRATAMIENTO	muestreo 0	muestreo 1	muestreo 2	muestreo 3	muestreo 4	muestreo 5	muestreo 6
CONTROL	4.9±4 ^a	7.8±5 ^a	3.3±3 ^a	8.4±10 ^a	5.1±7 ^a	4±4 ^a	7.6±5 ^a
GRUPO 1	3.7±2 ^a	6.8±3 ^a	3.1±2 ^a	4.3±6 ^b	2.6±3 ^b	3.6±2 ^a	3.3±3 ^b
GRUPO 2	11.3±6 ^b	14.2±8 ^b	3.8±2 ^a	7.3±6 ^a	6.5±6 ^a	3.8±3 ^a	6.5±4 ^a

Cuadro 9. Los valores indican media, ± DS y diferencia estadística.

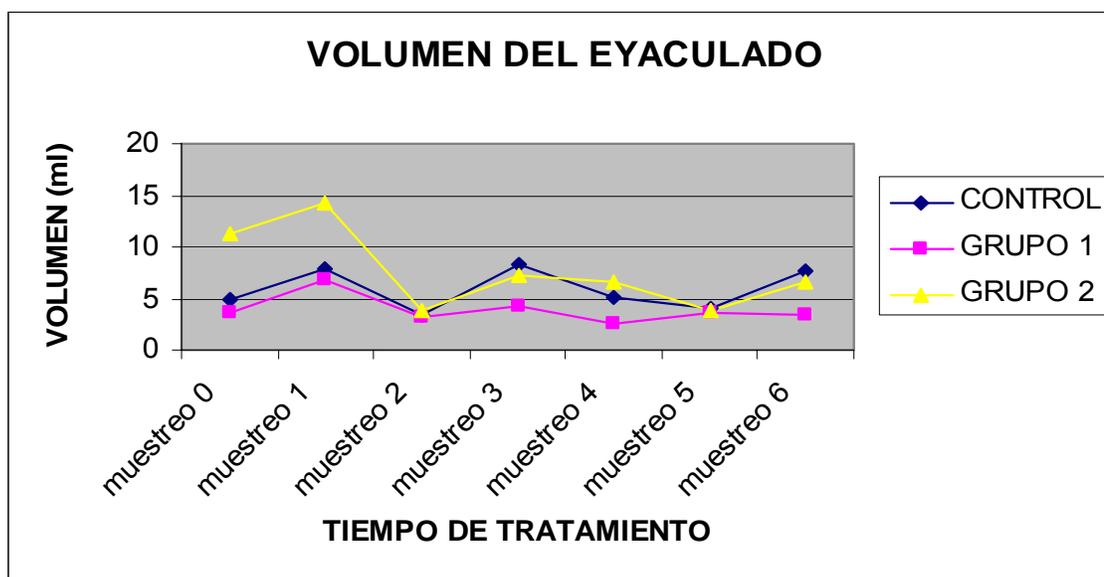


Gráfico 1. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

3.2 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

3.2.1 CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

El cuadro 10 y la gráfica 2 Incluyen todos los promedios, desviaciones estándar y diferencia estadística por grupo en cada uno de los muestreos realizados. Los promedios más altos se observaron en el muestreo uno. En los últimos muestreos (5 y 6) se observa como el grupo control presenta mayores concentraciones espermáticas que los grupos suplementados con omega 3 y 6, aunque solo en el muestreo cinco se observó diferencia estadística significativa según el análisis de varianza (ver Anexo XXVI). El grupo con menor concentración espermática a partir del muestreo cuatro fue el "1".

CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (X10 ⁶ /ml)							
TRATAMIENTO	muestreo 0	muestreo 1	Muestreo 2	muestreo 3	Muestreo 4	muestreo 5	muestreo 6
CONTROL	139±62 ^a	160±51 ^a	145±86 ^a	83±61 ^a	159±79 ^a	188±58 ^a	190±64 ^a
GRUPO 1	152±52 ^a	168±57 ^a	184±72 ^a	135±145 ^a	157±100 ^a	113±41 ^b	143±55 ^a
GRUPO 2	199±36 ^a	213±46 ^a	168±93 ^a	155±158 ^a	187±102 ^a	125±46 ^{ab}	179±70 ^a

Cuadro 10. Los valores indican la media, ± DS y diferencia estadística.

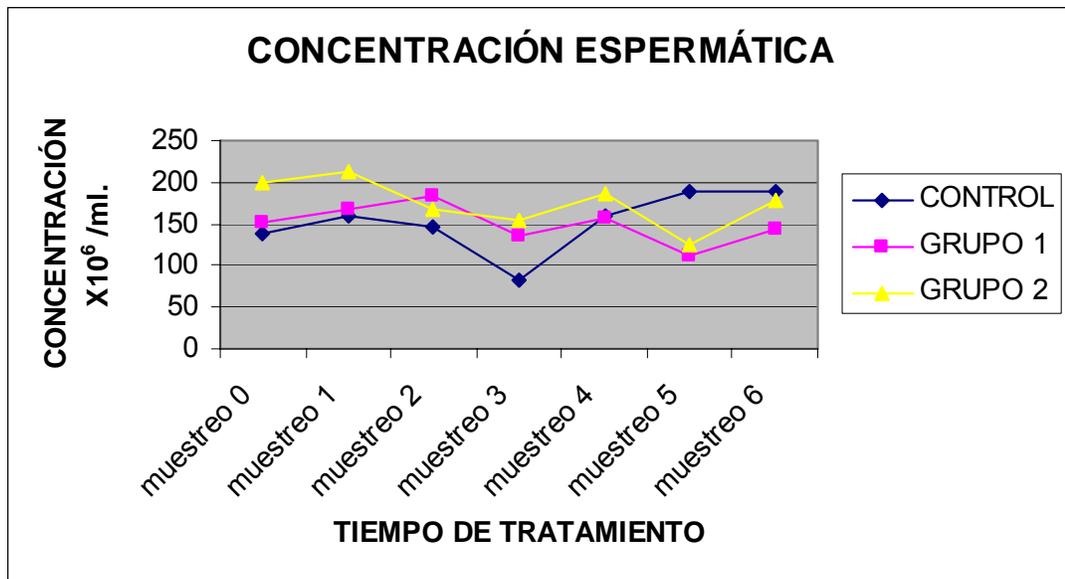


Gráfico 2. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

Los cuadros 11 a 17 y las gráficas 3 a 9 muestran la media, \pm DS y diferencia estadística de los valores obtenidos en cada uno de los grupos por muestreo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

CONCENTRACIÓN X10 ⁶ /ml MUESTREO "0"	
CONTROL	139 \pm 62 ^a
GRUPO 1	152 \pm 52 ^a
GRUPO 2	199 \pm 36 ^a

Cuadro 11. Media \pm DS por grupo.

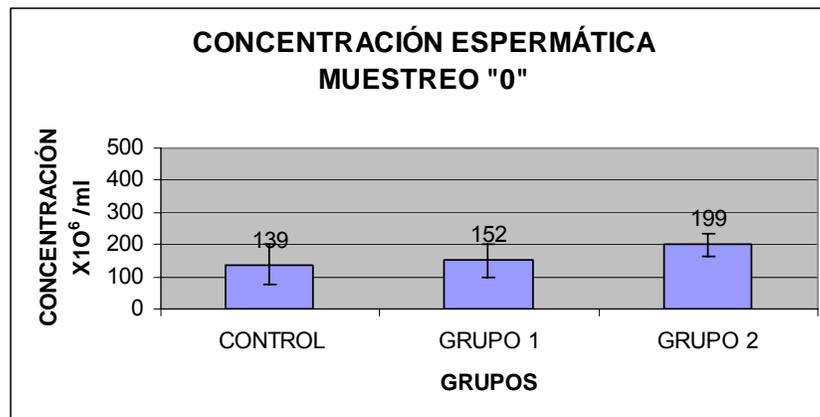


Gráfico 3. Media \pm DS por grupo.

CONCENTRACIÓN X10 ⁶ /ml MUESTREO "1"	
CONTROL	160 \pm 51 ^a
GRUPO 1	168 \pm 57 ^a
GRUPO 2	213 \pm 46 ^a

Cuadro 12. Media \pm DS por grupo.

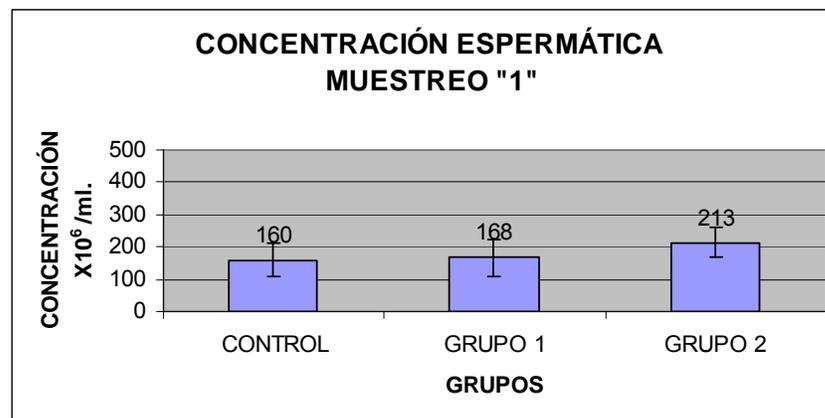


Gráfico 4. Media \pm DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

CONCENTRACIÓN X10⁶/ml MUESTREO "2"	
CONTROL	145±86 ^a
GRUPO 1	184±72 ^a
GRUPO 2	168±93 ^a

Cuadro 13. Media ±DS por grupo.

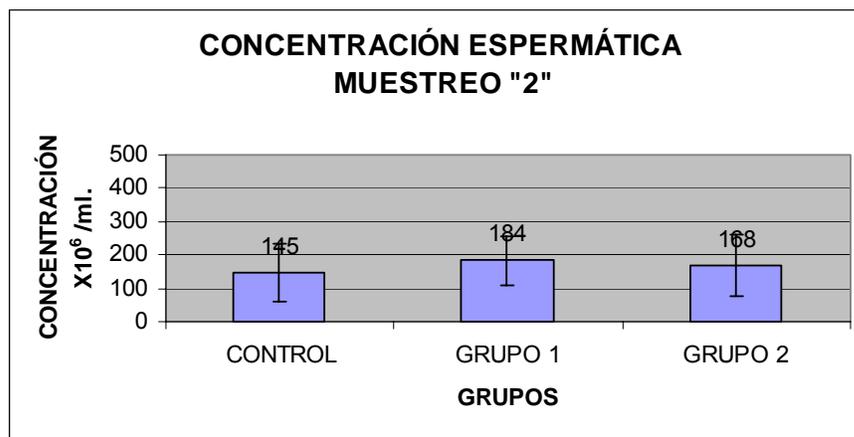


Gráfico 5. Media ±DS por grupo.

CONCENTRACIÓN X10⁶/ml MUESTREO "3"	
CONTROL	83±61 ^a
GRUPO 1	135±145 ^a
GRUPO 2	155±158 ^a

Cuadro 14. Media ±DS por grupo.

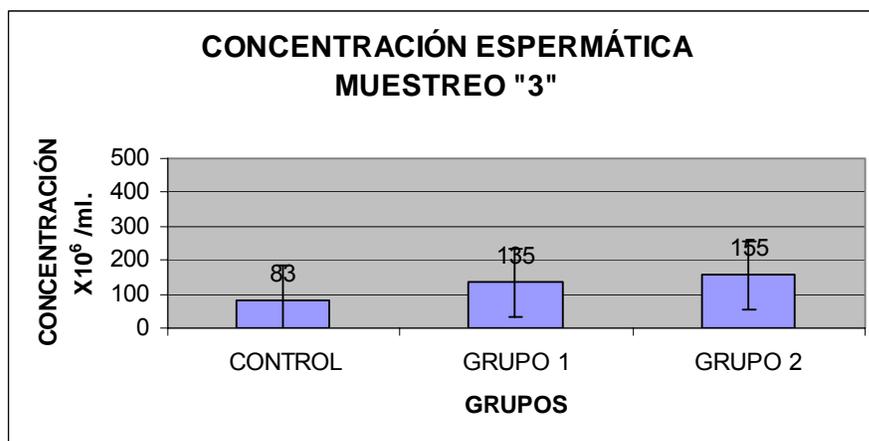


Gráfico 6. Media ±DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

CONCENTRACIÓN X10 ⁶ /ml MUESTREO "4"	
CONTROL	159±79 ^a
GRUPO 1	157±100 ^a
GRUPO 2	187±102 ^a

Cuadro 15. Media ±DS por grupo.

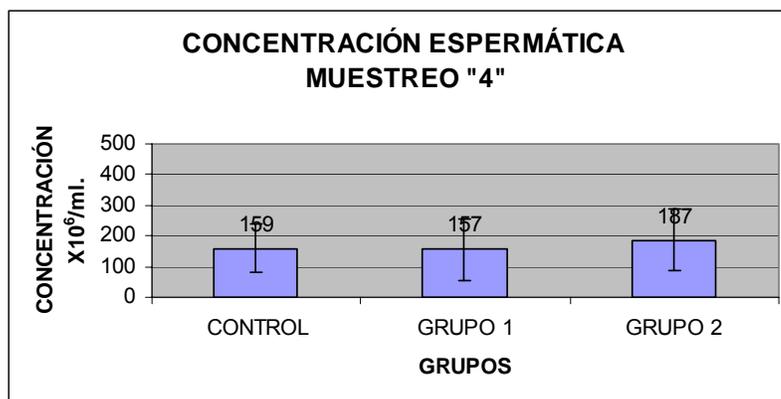


Gráfico 7. Media ±DS por grupo.

CONCENTRACIÓN X10 ⁶ /ml MUESTREO "5"*	
CONTROL	188±58 ^a
GRUPO 1	113±41 ^b
GRUPO 2	125±46 ^{ab}

Cuadro 16. Media ±DS por grupo.

*Estadísticamente significativo P < 0.05

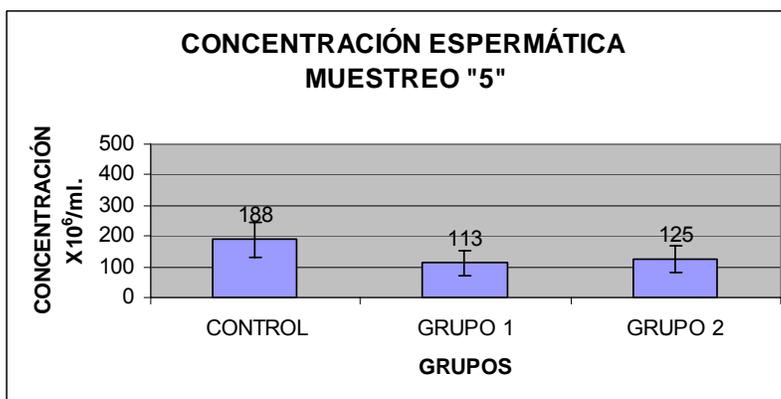


Gráfico 8. Media ±DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

CONCENTRACIÓN X10 ⁶ /ml MUESTREO "6"	
CONTROL	190±64 ^a
GRUPO 1	143±55 ^a
GRUPO 2	179±70 ^a

Cuadro 17. Media ±DS por grupo.

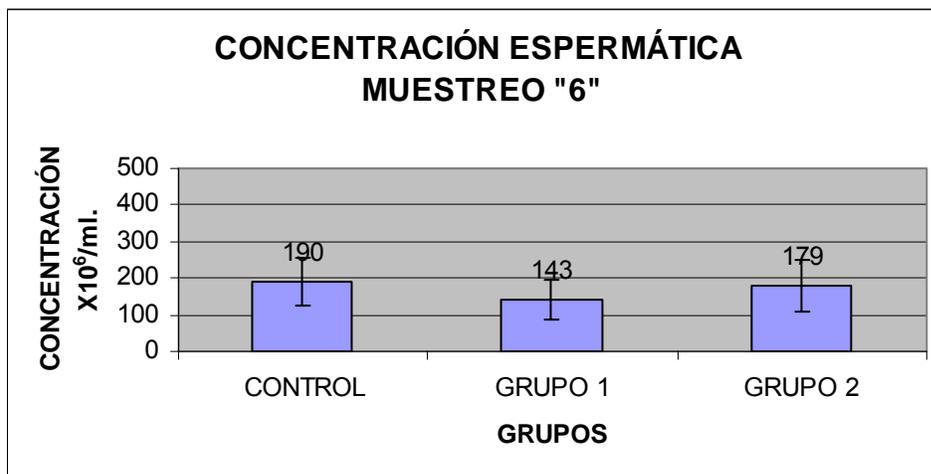


Gráfico 9. Media ± DS por grupo.

3.2.2 MOVILIDAD ESPERMÁTICA

El cuadro 18 y la gráfica 10 incluyen los promedios, desviación estándar y diferencia estadística por grupo de todos los muestreos realizados, y en seguida se encuentran las gráficas que corresponden a cada uno de los muestreos de forma individual. A partir del muestreo dos la movilidad espermática fue mayor en el grupo control que en los grupos suplementados con omega 3 y 6, sin embargo no hubo diferencias significativas entre los tres grupos en ninguno de los muestreos. El promedio más alto se observó en el muestreo tres.

MOVILIDAD ESPERMÁTICA INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (%)							
TRATAMIENTO	Muestreo 0	muestreo 1	muestreo 2	muestreo 3	muestreo 4	muestreo 5	muestreo 6
CONTROL	80±15 ^a	86±4 ^a	92±3 ^a	92±4 ^a	94±2 ^a	92±3 ^a	91±4 ^a
GRUPO 1	87±4 ^a	83±5 ^a	90±5 ^a	89±5 ^a	87±7 ^a	91±5 ^a	89±4 ^a
GRUPO 2	89±7 ^a	89±8 ^a	87±15 ^a	92±5 ^a	89±8 ^a	88±6 ^a	90±4 ^a

Cuadro 18. Los valores indican la media, ± DS y diferencia estadística.

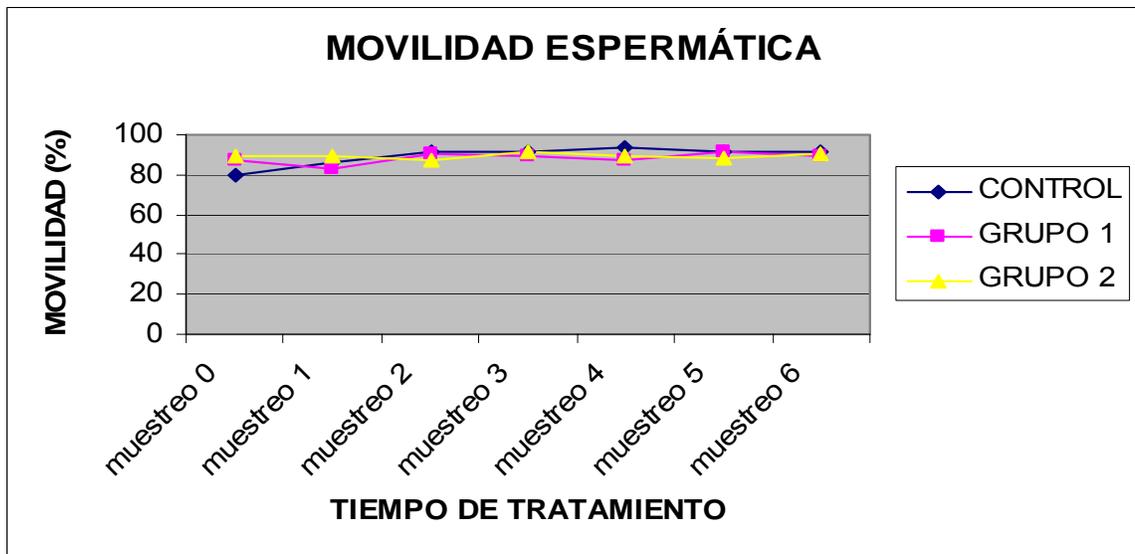


Gráfico 10. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

Los cuadros 19 a 25 y las gráficas 11 a 17 muestran la media, \pm DS y diferencia estadística de los valores obtenidos en cada uno de los grupos por muestreo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "0"	
CONTROL	80 ± 15^a
GRUPO 1	87 ± 4^a
GRUPO 2	89 ± 7^a

Cuadro 19. Media \pm DS por grupo.

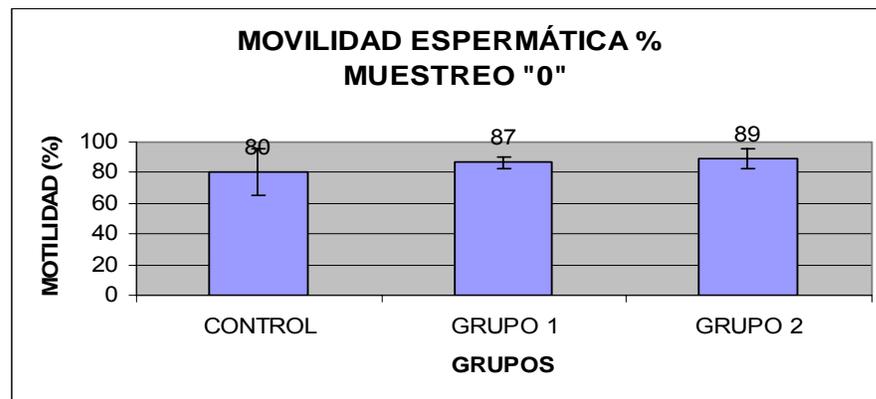


Gráfico 11. Media \pm DS por grupo.

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "1"	
CONTROL	86 ± 4^a
GRUPO 1	83 ± 5^a
GRUPO 2	89 ± 8^a

Cuadro 20. Media \pm DS por grupo.

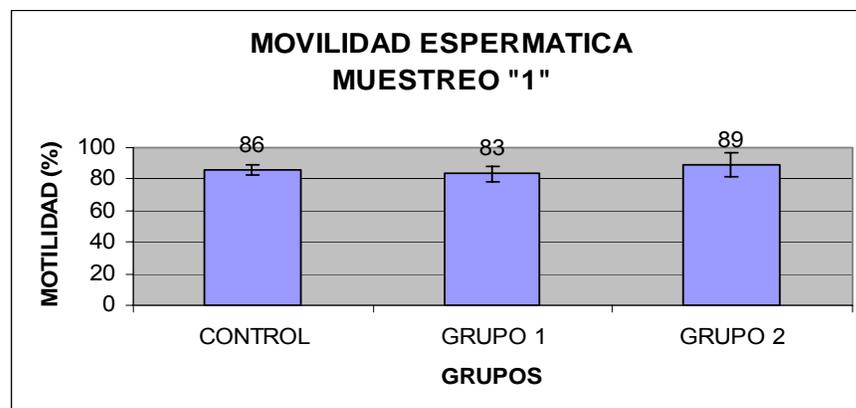


Gráfico 12. Media \pm DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "2"	
CONTROL	92±3 ^a
GRUPO 1	90±5 ^a
GRUPO 2	87±15 ^a

Cuadro 21. Media ± DS por grupo.

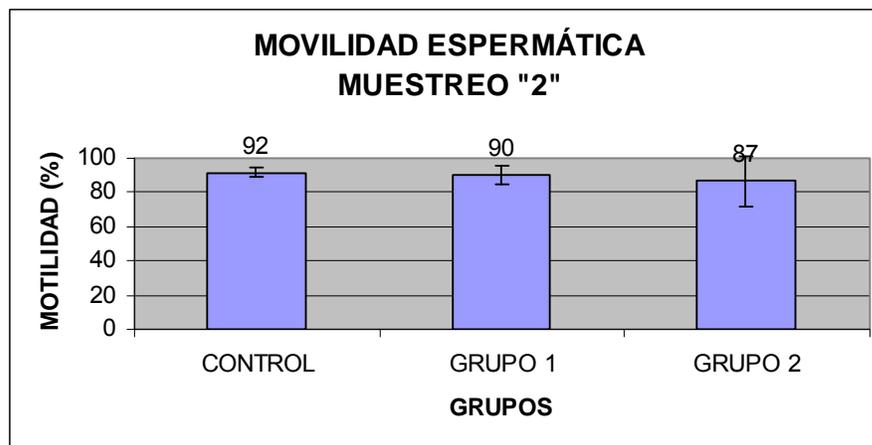


Gráfico 13. Media ± DS por grupo.

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "3"	
CONTROL	92±4 ^a
GRUPO 1	89±5 ^a
GRUPO 2	92±5 ^a

Cuadro 22. Media ± DS por grupo.

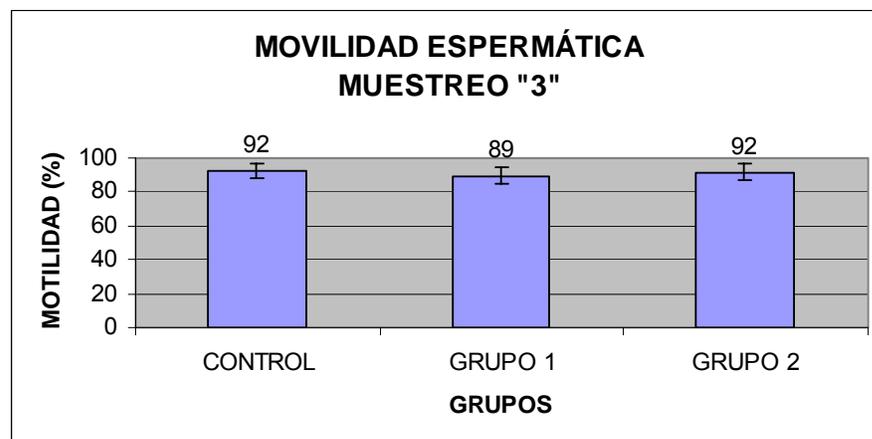


Gráfico 14. Media ± DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "4"	
CONTROL	94±2 ^a
GRUPO 1	87±7 ^a
GRUPO 2	89±8 ^a

Cuadro 23. Media ± DS por grupo.

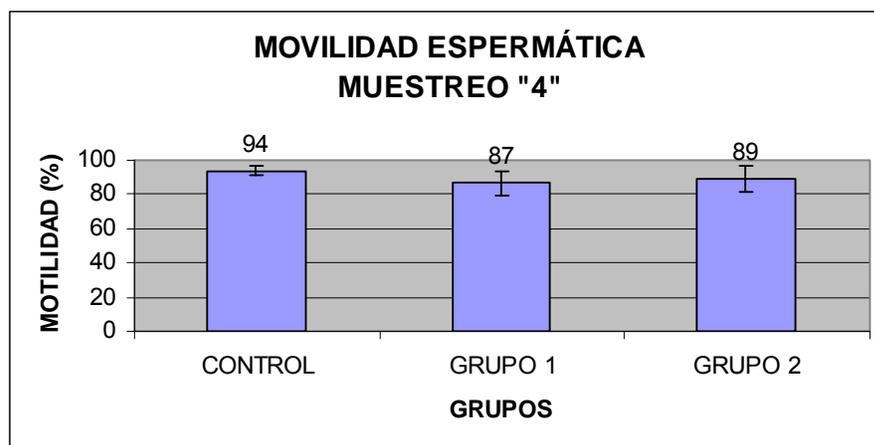


Gráfico 15. Media ± DS por grupo.

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "5"	
CONTROL	92±3 ^a
GRUPO 1	91±5 ^a
GRUPO 2	88±6 ^a

Cuadro 24. Media ± DS por grupo.

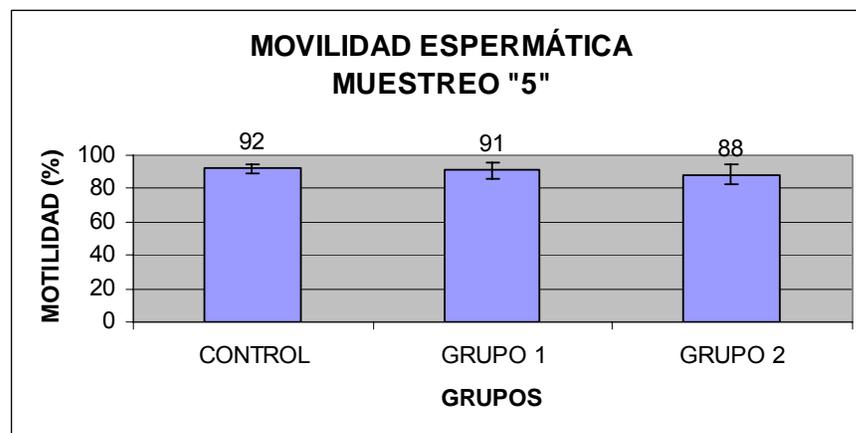


Gráfico 16. Media ± DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

MOVILIDAD ESPERMÁTICA (%) MUESTREO "6"	
CONTROL	91±4 ^a
GRUPO 1	89±4 ^a
GRUPO 2	90±4 ^a

Cuadro 25. Media ± DS por grupo.

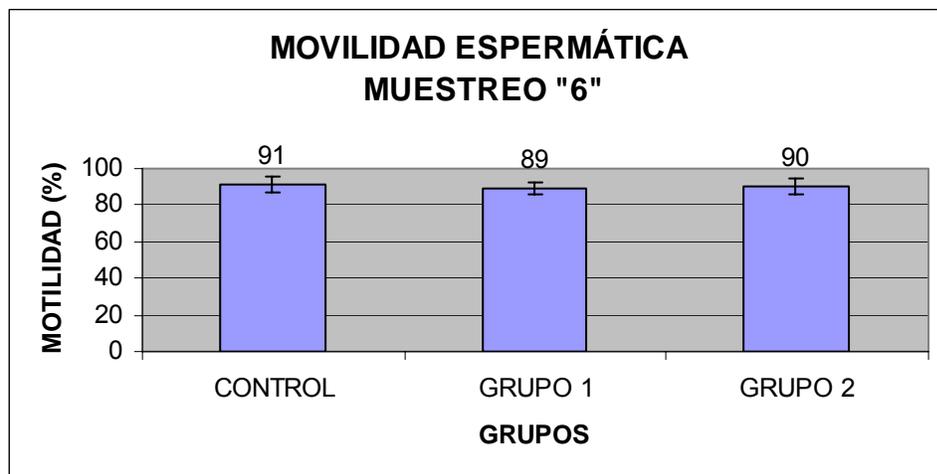


Gráfico 17. Media ± DS por grupo.

3.2.3 MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA NORMAL

El cuadro 26 y la grafica 18 incluyen todos los promedios y desviación estándar por grupo de todos los muestreos realizados y más adelante se encuentran las gráficas de cada muestreo en forma individual. El mayor promedio de los grupos se encontró en el muestreo tres y a partir del muestreo dos el grupo control siempre fue mayor que los grupos suplementados con omega 3 y 6, siendo el más afectado a partir del muestreo tres el grupo "1". Sin embargo no se encontraron diferencias estadísticas significativas.

ESPERMATOZOIDES NORMALES INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (%)							
TRATAMIENTO	Muestreo 0	muestreo 1	muestreo 2	muestreo 3	muestreo 4	muestreo 5	muestreo 6
CONTROL	75±30 ^a	74±20 ^a	88±11 ^a	85±7 ^a	87±13 ^a	86±10 ^a	84±10 ^a
GRUPO 1	89±6 ^a	94±5 ^a	81±23 ^a	82±21 ^a	74±23 ^a	69±31 ^a	73±25 ^a
GRUPO 2	86±17 ^a	83±23 ^a	79±34 ^a	84±11 ^a	78±22 ^a	78±23 ^a	78±20 ^a

Cuadro 26. Los valores indican la media, ± DS y diferencia estadística.

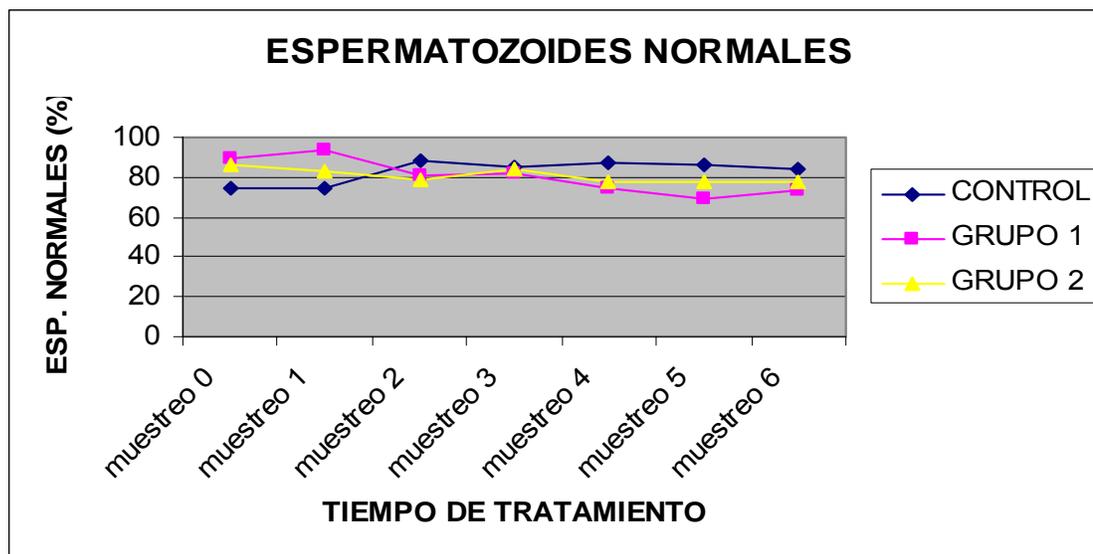


Gráfico 18. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

3.2.4 DAÑO ACROSOMAL

La variable microscópica “acrosomas normales” representa gran importancia para el éxito en la fertilización. El cuadro 27 y la gráfica 19 incluyen todos los promedios, desviación estándar y diferencia estadística por grupo de todos los muestreos realizados y más adelante se encuentran las gráficas de cada muestreo en forma individual. El mayor promedio de los grupos se observó en el muestreo cinco; sin embargo durante todos los muestreos los resultados fueron similares.

ACROSOMAS NORMALES INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (%)							
TRATAMIENTO	muestreo 0	muestreo 1	muestreo 2	muestreo 3	muestreo 4	muestreo 5	muestreo 6
CONTROL	85±19 ^a	88±14 ^a	87±6 ^a	94±3 ^a	95±3 ^a	95±3 ^a	94±4 ^a
GRUPO 1	94±4 ^a	96±3 ^a	88±7 ^a	92±10 ^a	88±10 ^a	93±3 ^a	92±3 ^a
GRUPO 2	93±6 ^a	91±10 ^a	91±5 ^a	94±4 ^a	92±7 ^a	94±2 ^a	93±3 ^a

Cuadro 27. Los valores indican la media, ± DS y diferencia estadística.

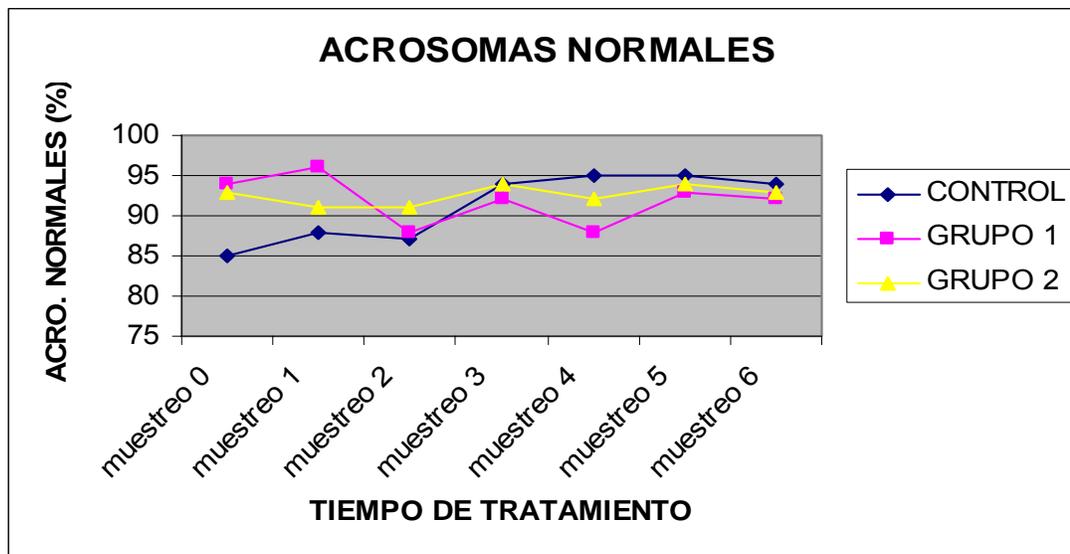


Gráfico 19. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

Los cuadros 28 a 34 y las gráficas 20 a 33 muestran la media, \pm DS y diferencia estadística de los valores obtenidos en cada uno de los grupos por muestreo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "0" 10/10/2005		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	74.67 \pm 29.95 ^a	85.17 \pm 18.77 ^a
GRUPO 1	88.83 \pm 5.64 ^a	93.67 \pm 3.88 ^a
GRUPO 2	86.33 \pm 16.75 ^a	92.83 \pm 6.18 ^a

Cuadro 28. Los valores indican media \pm DS.

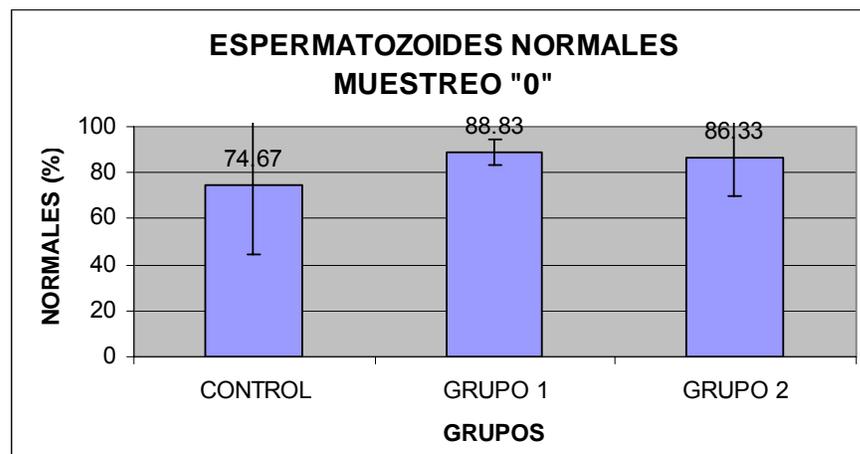


Gráfico 20. Los valores indican media \pm DS.

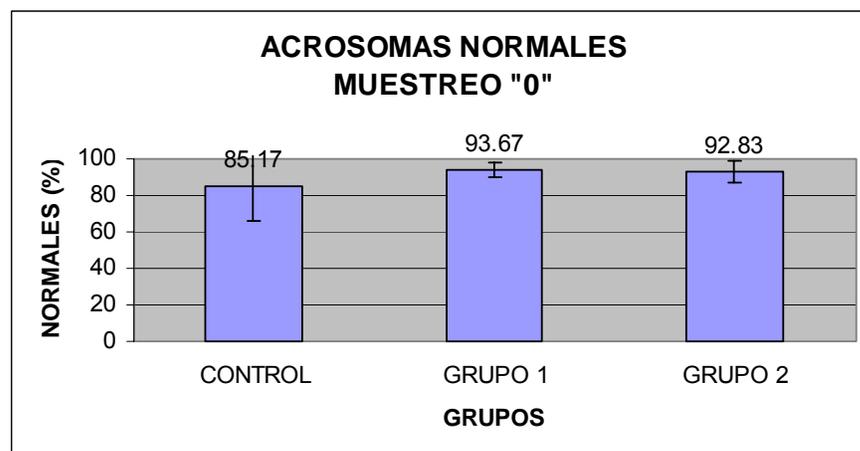


Gráfico 21. Los valores indican media \pm DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "1" 29/10/2005		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	74.33±20.25 ^a	88±13.71 ^a
GRUPO 1	93.83±5.15 ^a	95.5±2.89 ^a
GRUPO 2	82.67±22.63 ^a	91±10.35 ^a

Cuadro 29. Los valores indican media ± DS.

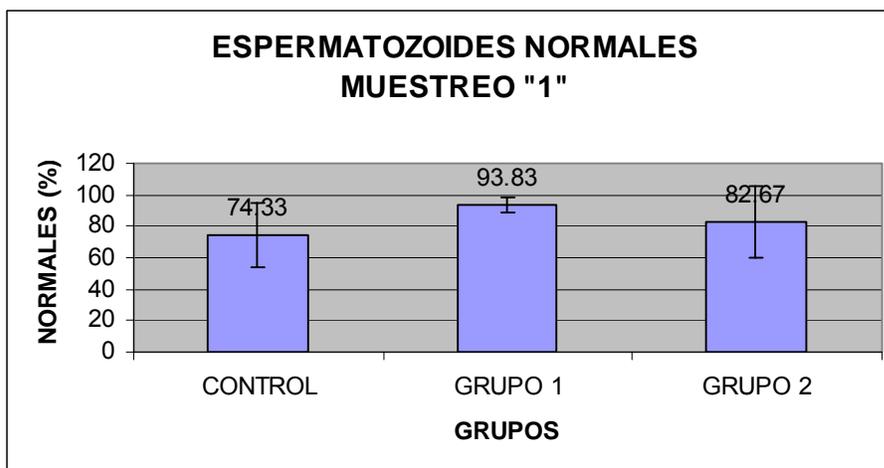


Gráfico 22. Los valores indican media ± DS.

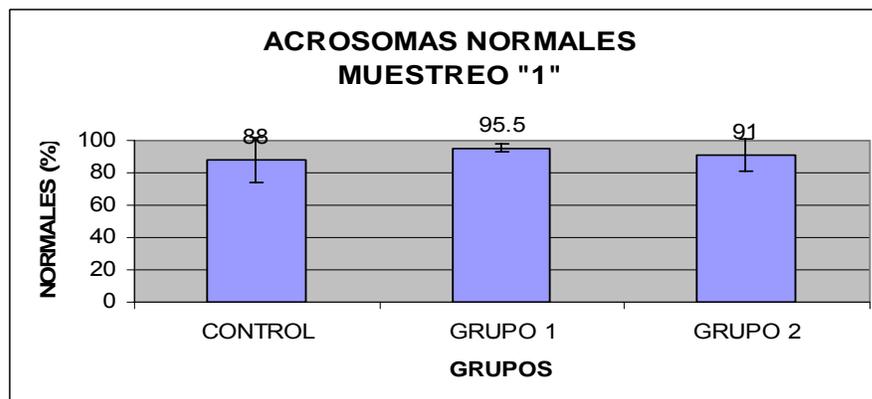


Gráfico 23. Los valores indican media ± DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "2" 29/11/2005		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	87.83±10.63 ^a	86.5±6.09 ^a
GRUPO 1	80.83±22.66 ^a	87.67±7.23 ^a
GRUPO 2	78.5±34.22 ^a	91.33±5.13 ^a

Cuadro 30. Los valores indican media ± DS.

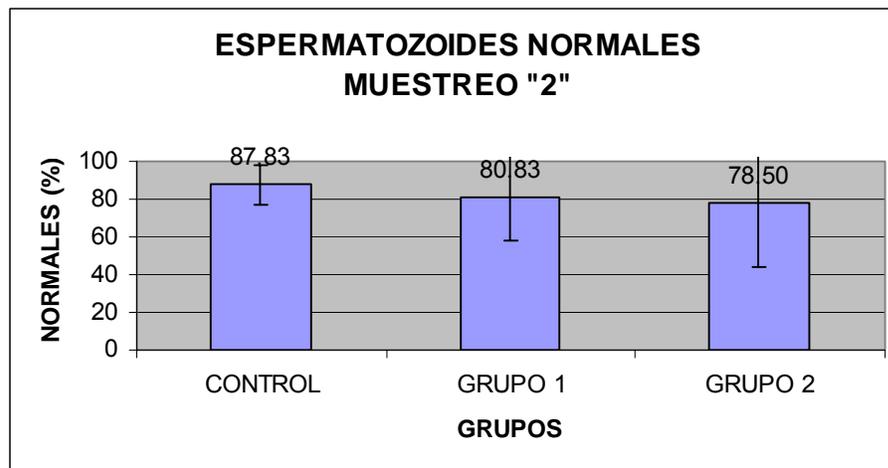


Gráfico 24. Los valores indican media ± DS.

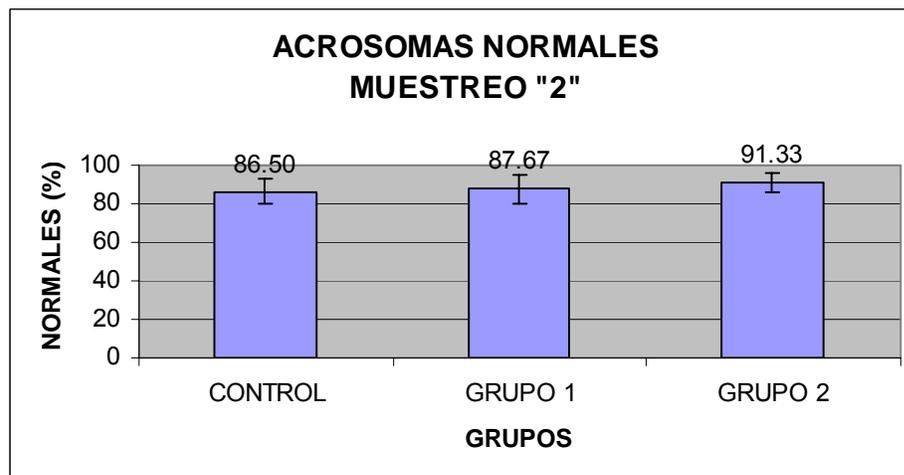


Gráfico 25. Los valores indican media ± DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "3" 29/12/2005		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	84.6±7.44 ^a	94.2±2.86 ^a
GRUPO 1	81.67±20.63 ^a	92.33±10.35 ^a
GRUPO 2	83.83±11.09 ^a	93.5±4.23 ^a

Cuadro 31. Los valores indican media ± DS.

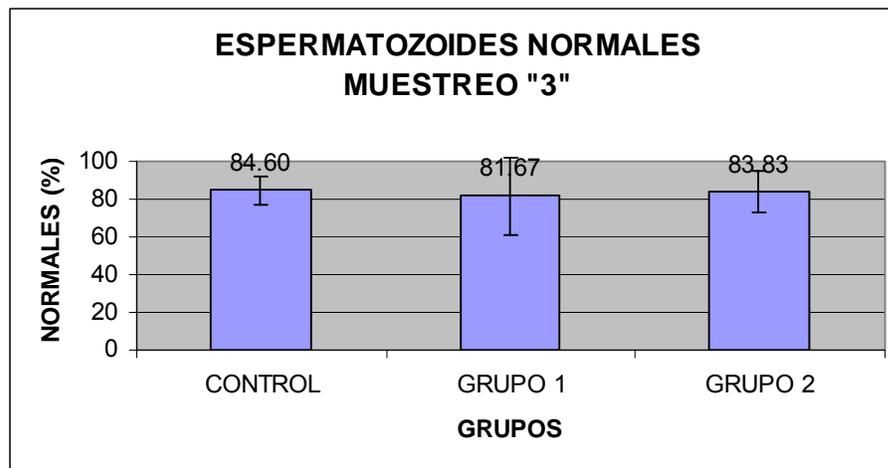


Gráfico 26. Los valores indican media ± DS.

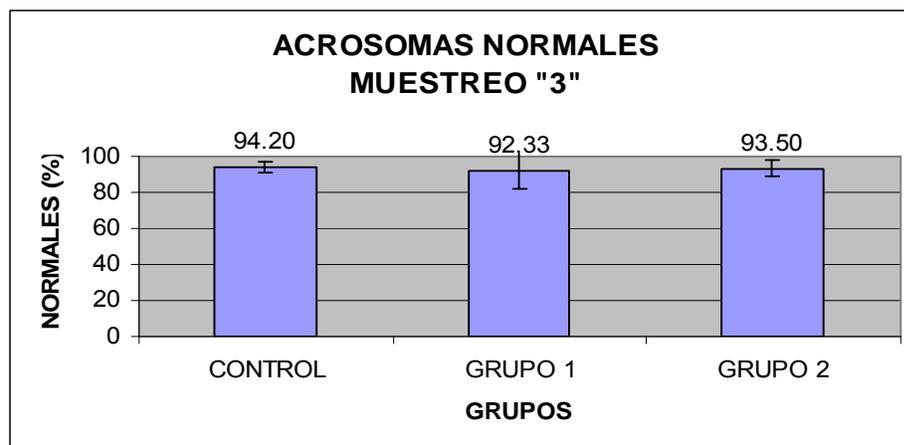


Gráfico 27. Los valores indican media ± DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "4" 29/01/2006		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	86.8±13.18 ^a	95.2±2.59 ^a
GRUPO 1	74.17±22.6 ^a	87.67±10.44 ^a
GRUPO 2	77.67±21.53 ^a	91.83±7.14 ^a

Cuadro 32. Los valores indican media ± DS.

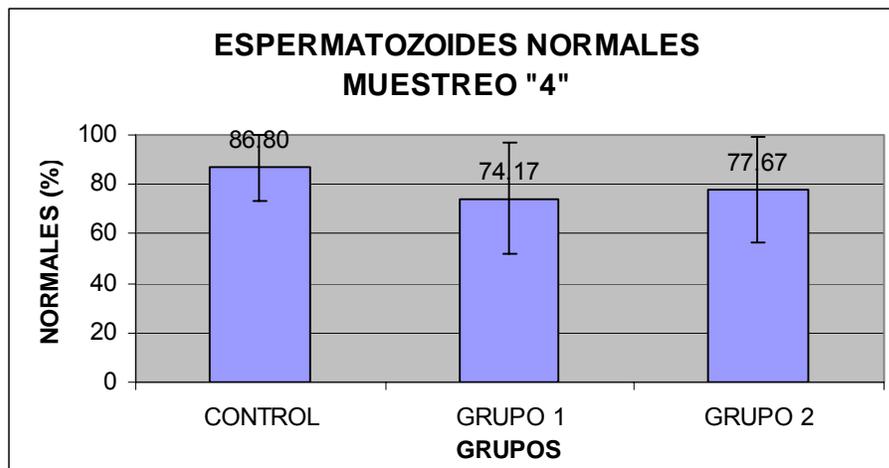


Gráfico 28. Los valores indican media ± DS.

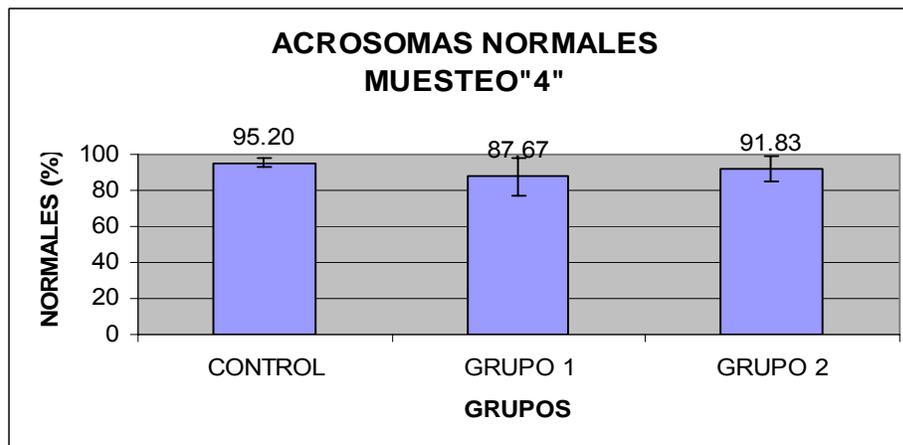


Gráfico 29. Los valores indican media ± DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "5" 28/02/2006		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	85.2±9.76 ^a	95±2.83 ^a
GRUPO 1	69±31.21 ^a	93.17±2.93 ^a
GRUPO 2	78±22.71 ^a	93.83±2.23 ^a

Cuadro 33. Los valores indican media ± DS.

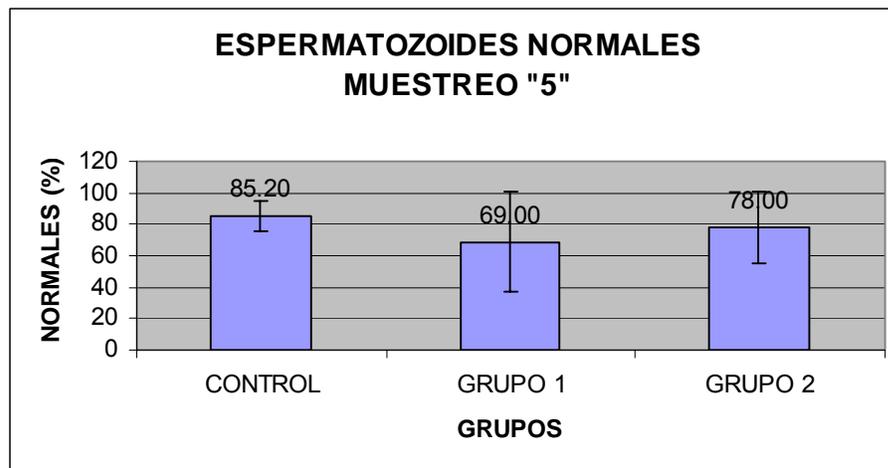


Gráfico 30. Los valores indican media ± DS.

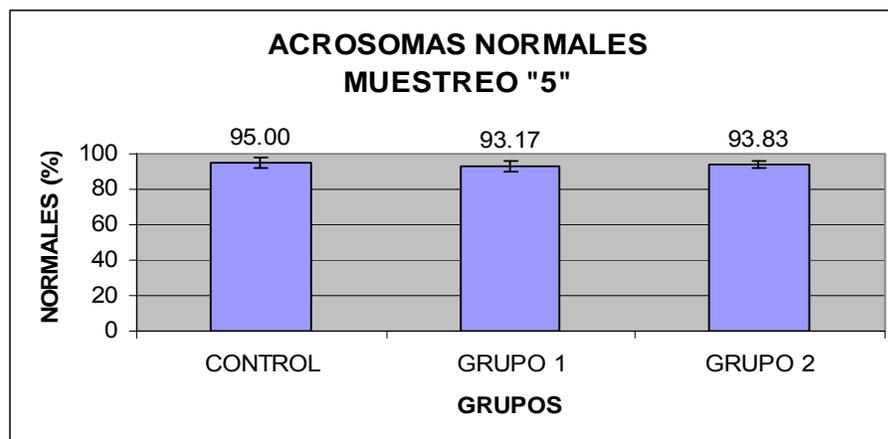


Gráfico 31. Los valores indican media ± DS.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE ESPERMATOZOIDES Y ACROSOMAS NORMALES

ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CELULAS ESPERMÁTICAS MUESTREO "6" 03/2006		
GRUPO	% ESP.NORM	%ACRO.NORM
CONTROL	83.8±9.89 ^a	93.8±3.83 ^a
GRUPO 1	72.83±25.47 ^a	92.17±3.19 ^a
GRUPO 2	77.83±19.55 ^a	93.17±3.19 ^a

Cuadro 34. Los valores indican media ± DS.

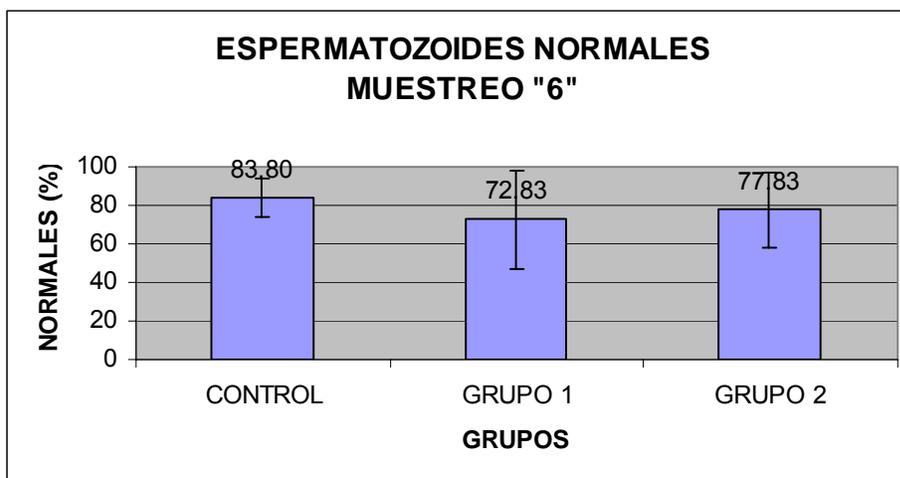


Gráfico 32. Los valores indican media ± DS.

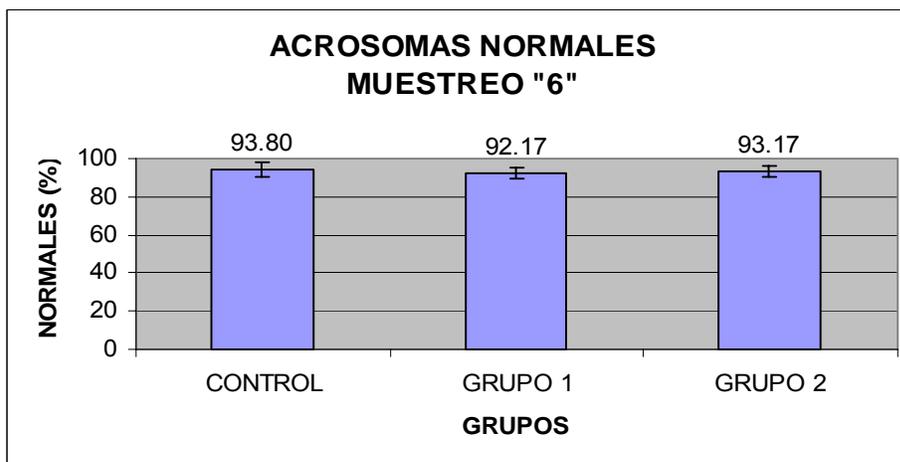


Gráfico 33. Los valores indican media ± DS.

3.3 ESTADO DEL EPITELIO SEMINÍFERO

Para la variable del daño histológico en el epitelio seminífero, el cuadro 35 y la gráfica 34 representan los promedios, desviación estándar y diferencia estadística por grupo de acuerdo al índice de calificación utilizado para determinar el daño histológico. El grupo control fue el que mostró menor daño respecto a los otros dos grupos suplementados con omega 3 y 6. En el grupo "2" se observó estadísticamente significativo con mayor daño en el epitelio seminífero respecto a los otros dos grupos. (Ver análisis estadístico capítulo 4, Anexo XVIII y XXVI). Las alteraciones histológicas que se presentaron con mayor incidencia al momento de la evaluación fueron; descamación celular, plegamiento de la membrana celular y vacuolización.

ÍNDICE HISTOPATOLÓGICO (IHP)	
CONTROL	1.50±.32 ^a
GRUPO 1	1.55±.25 ^a
GRUPO 2	2.25±.21 ^b

Cuadro 35. Media ± DS por grupo.
a, b diferencia estadística significativa con una P< 0.05

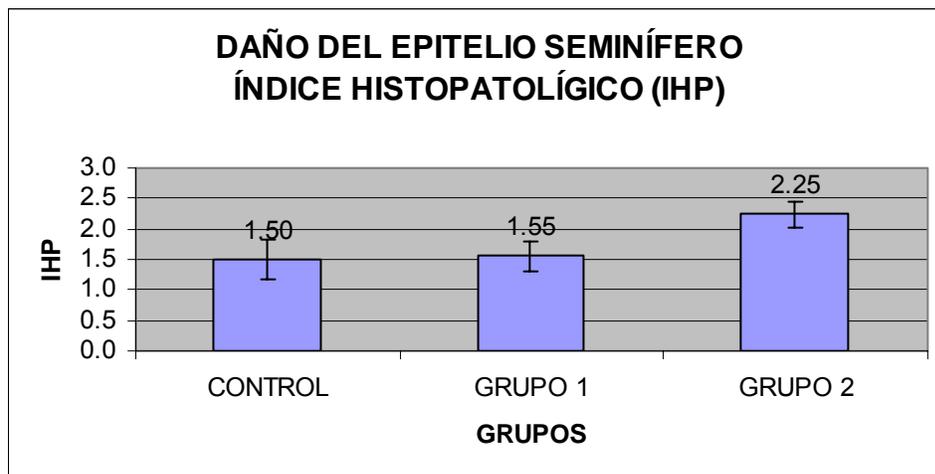


Gráfico 34. Media ± DS por grupo.

3.4 CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA (T4)

El cuadro 36 y la gráfica 35 incluyen todos los promedios, desviación estándar y diferencia estadística por grupo de los muestreos realizados y en seguida se encuentran las gráficas de cada uno de los muestreos en forma individual. El mayor promedio de todos los grupos se observó en el muestreo seis y, se observó diferencia estadística significativa en los muestreos cuatro y seis (Ver análisis estadístico capítulo 4 Y Anexos XIX, XXI). El grupo “2” a partir del muestreo uno presentó menor concentración de T4 con relación a los otros dos grupos, los cuales fueron muy similares en sus valores durante todo el tratamiento. Todos los resultados por individuo de la concentración de testosterona están reportados en el anexo VIII.

CONCENTRACIÓN DE T4 INCLUYENDO TODOS LOS MUESTREOS (Pg/ml)							
TRATAMIENTO	MUESTREO 0	MUESTREO 1	MUESTREO 2	MUESTREO 3	MUESTREO 4	MUESTREO 5	MUESTREO 6
CONTROL	470±49 ^a	387±81 ^a	500±93 ^a	683±170 ^a	575±55 ^a	580±108 ^a	635±148 ^{ab}
GRUPO 1	608±109 ^a	402±157 ^a	532±155 ^a	416±101 ^a	554±170 ^{ab}	656±112 ^a	666±128 ^a
GRUPO 2	505±113 ^a	298±71 ^a	399±106 ^a	367±155 ^a	367±70 ^b	465±84 ^a	433±79 ^b

Cuadro 36. Los valores indican la media, ± DS y diferencia estadística. **a, b diferencia estadística significativa con una P < 0.05**

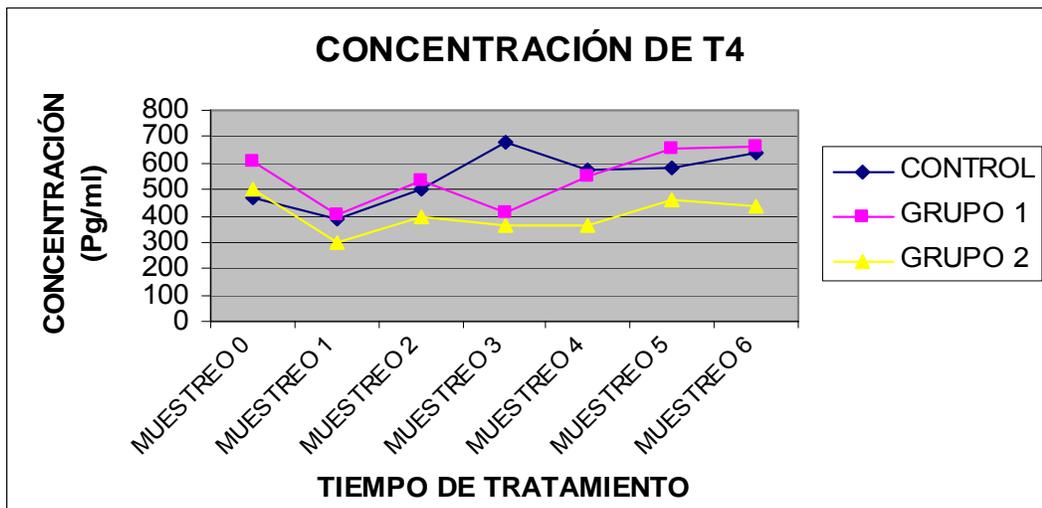


Gráfico 35. Media de cada uno de los grupos por muestreo.

Los cuadros 37 a 43 y las gráficas 36 a 42 muestran la media, \pm DS y diferencia estadística de los valores obtenidos en cada uno de los grupos por muestreo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTRO "0"	
CONTROL	470 \pm 49 ^a
GRUPO 1	608 \pm 109 ^a
GRUPO 2	505 \pm 113 ^a

Cuadro 37. Media \pm DS por grupo.

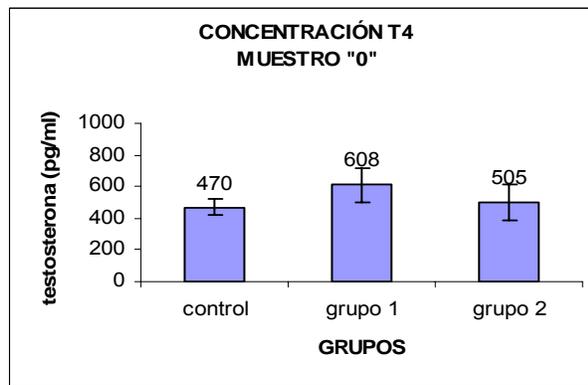


Gráfico 36. Media \pm DS por grupo.

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTRO "1"	
CONTROL	387 \pm 81 ^a
GRUPO 1	402 \pm 157 ^a
GRUPO 2	298 \pm 71 ^a

Cuadro 38. Media \pm DS por grupo.

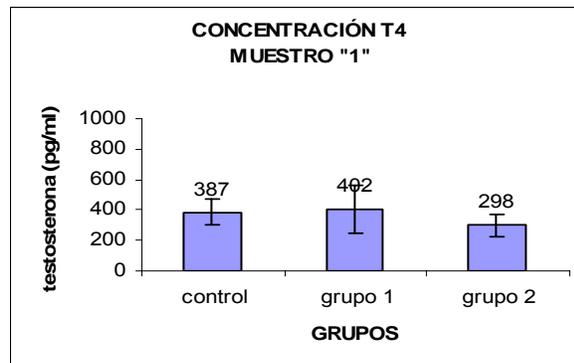


Gráfico 37. Media \pm DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTREO "2"	
CONTROL	500±93 ^a
GRUPO 1	532±155 ^a
GRUPO 2	399±106 ^a

Cuadro 39. Media ± DS por grupo.

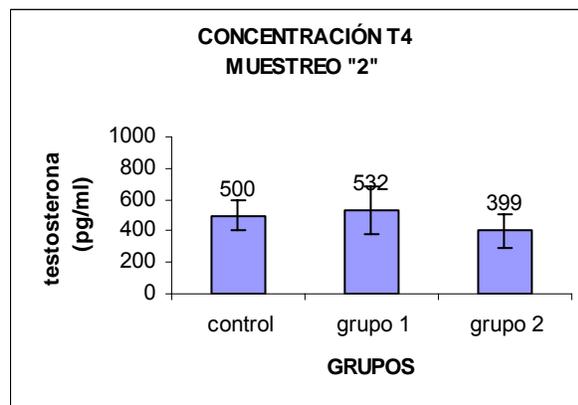


Gráfico 38. Media ± DS por grupo.

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTREO "3"	
CONTROL	683±170 ^a
GRUPO 1	416±101 ^a
GRUPO 2	367±155 ^a

Cuadro 40. Media ± DS por grupo.

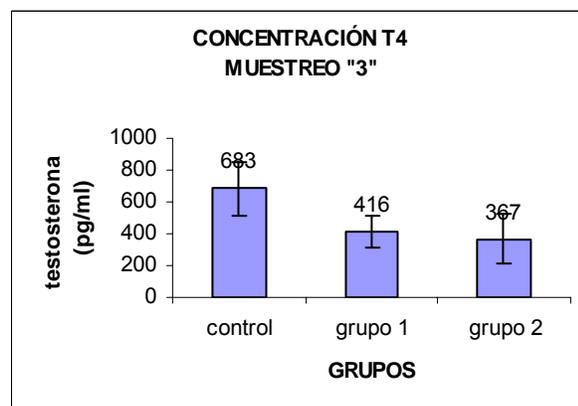


Gráfico 39. Media ± DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTREO "4"	
CONTROL	575±55 ^a
GRUPO 1	554±170 ^{ab}
GRUPO 2	367±70 ^b

Cuadro 41. Media ± DS por grupo.
*Estadísticamente significativo $P < 0.05$

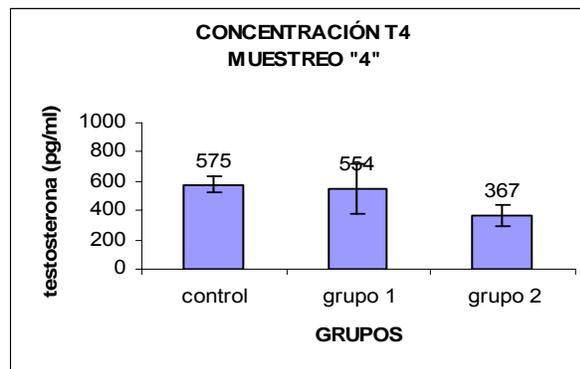


Gráfico 40. Media ± DS por grupo.

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTREO "5"	
CONTROL	580±108 ^a
GRUPO 1	656±112 ^a
GRUPO 2	465±84 ^a

Cuadro 42. Media ± DS por grupo.

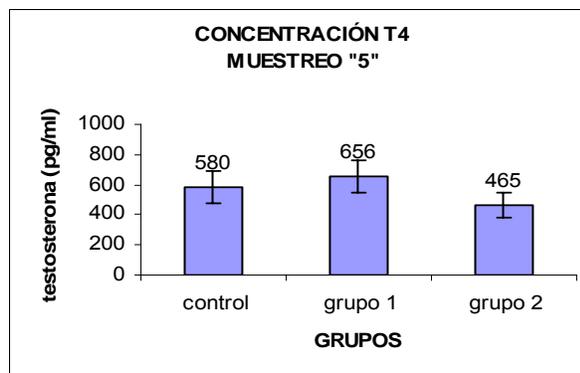


Gráfico 41. Media ± DS por grupo.

MUESTREOS POR CORTE EN EL TIEMPO DE LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

CONCENTRACIÓN T4 (Pg/ml) MUESTREO "6"	
CONTROL	635±148 ^{ab}
GRUPO 1	666±128 ^a
GRUPO 2	433±79 ^b

Cuadro 43. Media ± DS por grupo.

***Estadísticamente significativo P < 0.05**

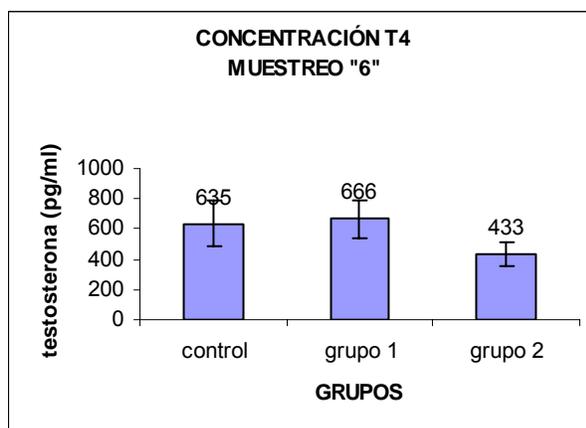


Gráfico 42. Media ± DS por grupo.

CAPITULO 4

“NO HAY MANERA DE SABER, ANTES DE EXPERIMENTAR”

CAPITULO 4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.1 ANÁLISIS DISCRIMINANTE

El Análisis Discriminante es una **técnica estadística multivariada** cuya finalidad es analizar si existen diferencias significativas entre grupos de objetos respecto a un conjunto de variables medidas sobre los mismos para, en el caso de que existan, explicar en qué sentido se dan y proporcionar procedimientos de clasificación sistemática de nuevas observaciones de origen desconocido en uno de los grupos analizados (Figueras, 2000).

Para esta prueba se incluyeron las siguientes variables: Concentración de T4, concentración y morfología espermática, así como daño acrosomal y daño del epitelio seminífero, a partir de los datos obtenidos al inicio, a la mitad y al final del tratamiento.

En los gráficos del análisis discriminante los números corresponden a los grupos que se establecieron para la investigación:

No. 1 corresponde al Grupo Control

No. 2 corresponde al Grupo "1"

No. 3 corresponde al Grupo "2"

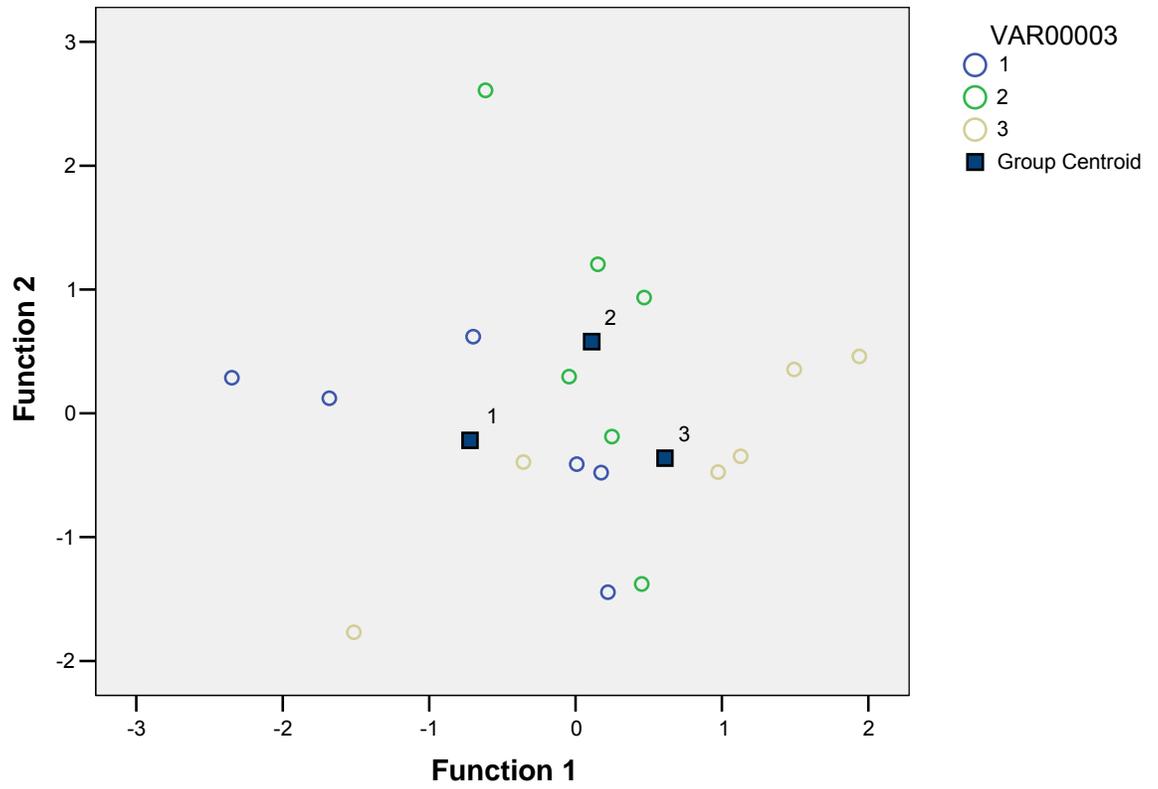
CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

MUESTREO "0"

El día que se inició el tratamiento (Muestreo "0") no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$), para decir que los grupos de acuerdo a las variables analizadas son diferentes, es decir, que la testosterona y la concentración espermática no guardan alguna correlación con el exceso de omega 3 y 6 (Gráfico 43). En la memoria estadística (Anexo IX) se encuentran las salidas de computadora de este análisis.

GRÁFICO 43

Canonical Discriminant Functions



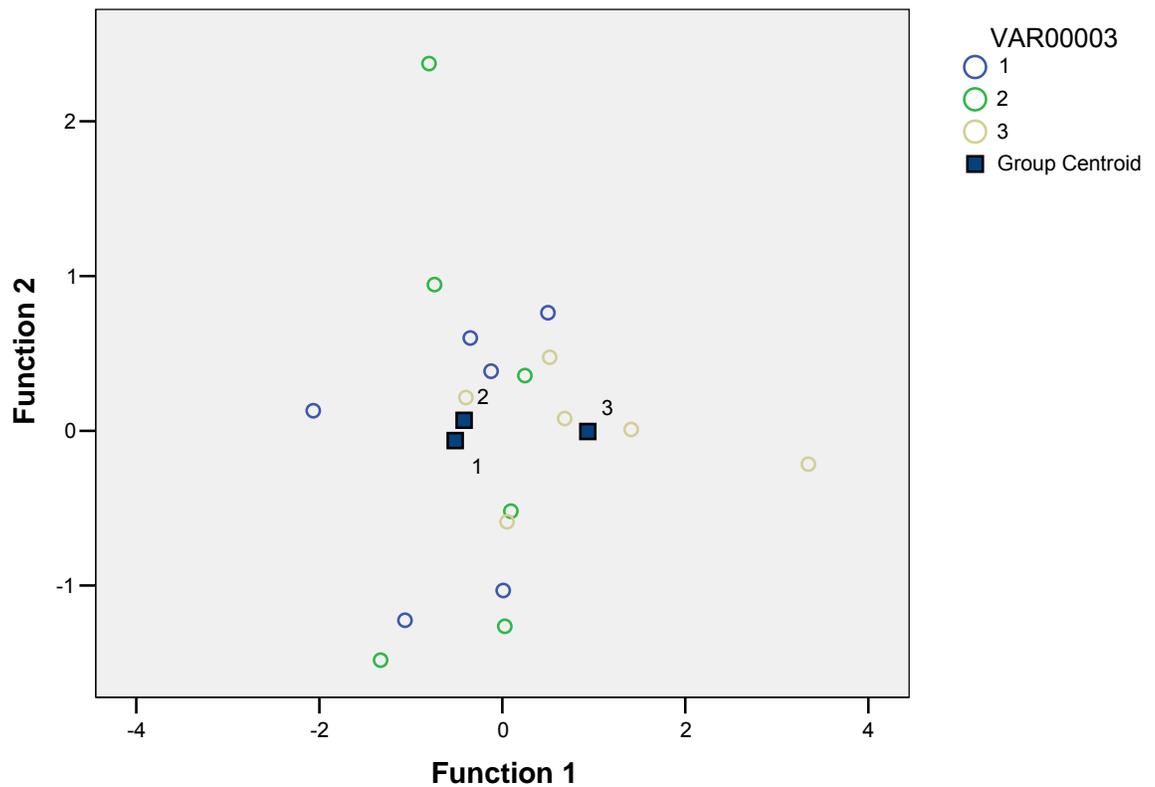
CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

MUESTREO "1"

Al final del primer mes de tratamiento (Muestreo "1") no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$), para mencionar que los grupos son diferentes y que las variables analizadas guardan alguna correlación con el exceso de omega 3 y 6 en la dieta (Gráfico 44). Salida de computadora de este análisis (Anexo X)

GRÁFICO 44

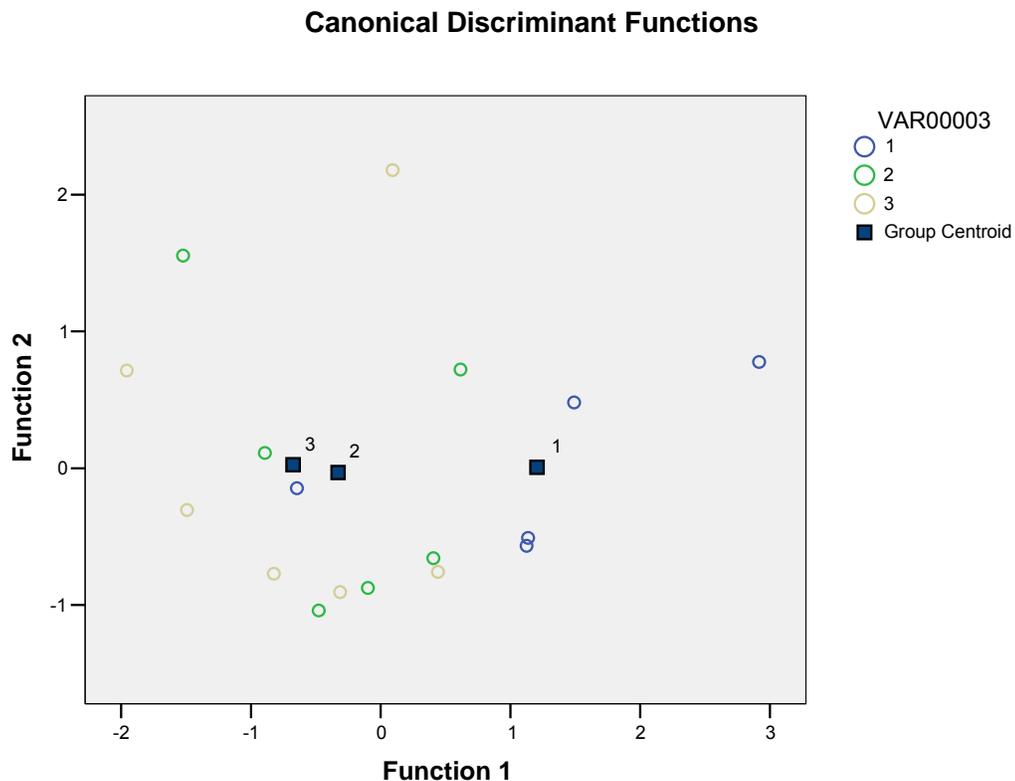
Canonical Discriminant Functions



CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA MUESTREO "3"

Al final del tercer mes de tratamiento, justo a la mitad del experimento (Muestreo "3") no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$), para mencionar que los grupos son independientes y que las variables analizadas guardan alguna correlación con el exceso de omega 3 y 6 en la dieta. Sin embargo gráficamente se observa una clara tendencia de los grupos a separarse, indicando un posible efecto del exceso de omegas en la dieta sobre la concentración de testosterona y la concentración espermática (Gráfico 45). El grupo control se separa perfectamente de los otros dos grupos, en la grafica el grupo control corresponde al No. 1. Salida de computadora de este análisis (Anexo XI)

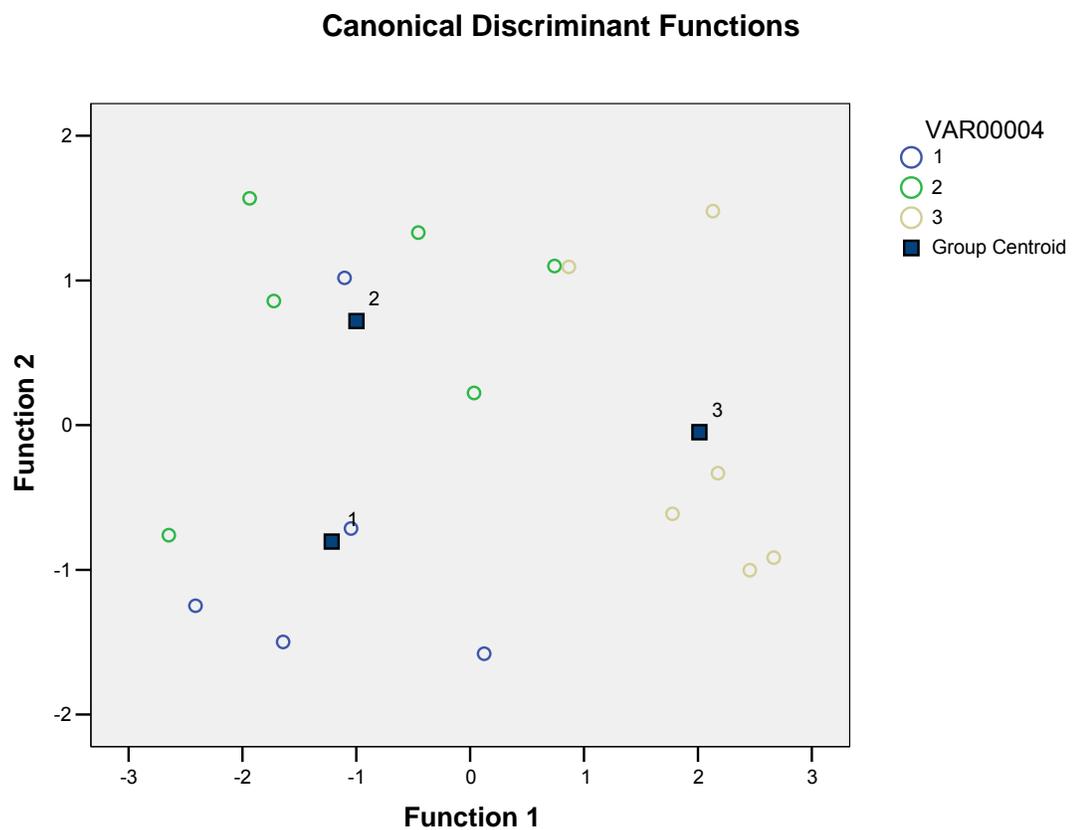
GRÁFICO 45



CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA, CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA Y DAÑO HISTOLÓGICO MUESTREO "6"

Al final del tratamiento (muestreo "6") se incluyeron en el análisis tres variables (Concentración de T4, concentración espermática y el daño histológico), no se encontró evidencia estadística significativa para mencionar que los grupos son diferentes y que las variables analizadas guardan alguna correlación con el exceso de omegas en la dieta. Sin embargo gráficamente se observa una tendencia muy clara de los grupos a separarse, indicando un posible efecto del exceso de omegas sobre la testosterona, la concentración espermática y el daño histológico (Gráfico 46). El grupo "2" (doblemente suplementado) se separa perfectamente, en la gráfica corresponde al No. 3. Salida de computadora de este análisis (Anexo XII).

GRÁFICO 46

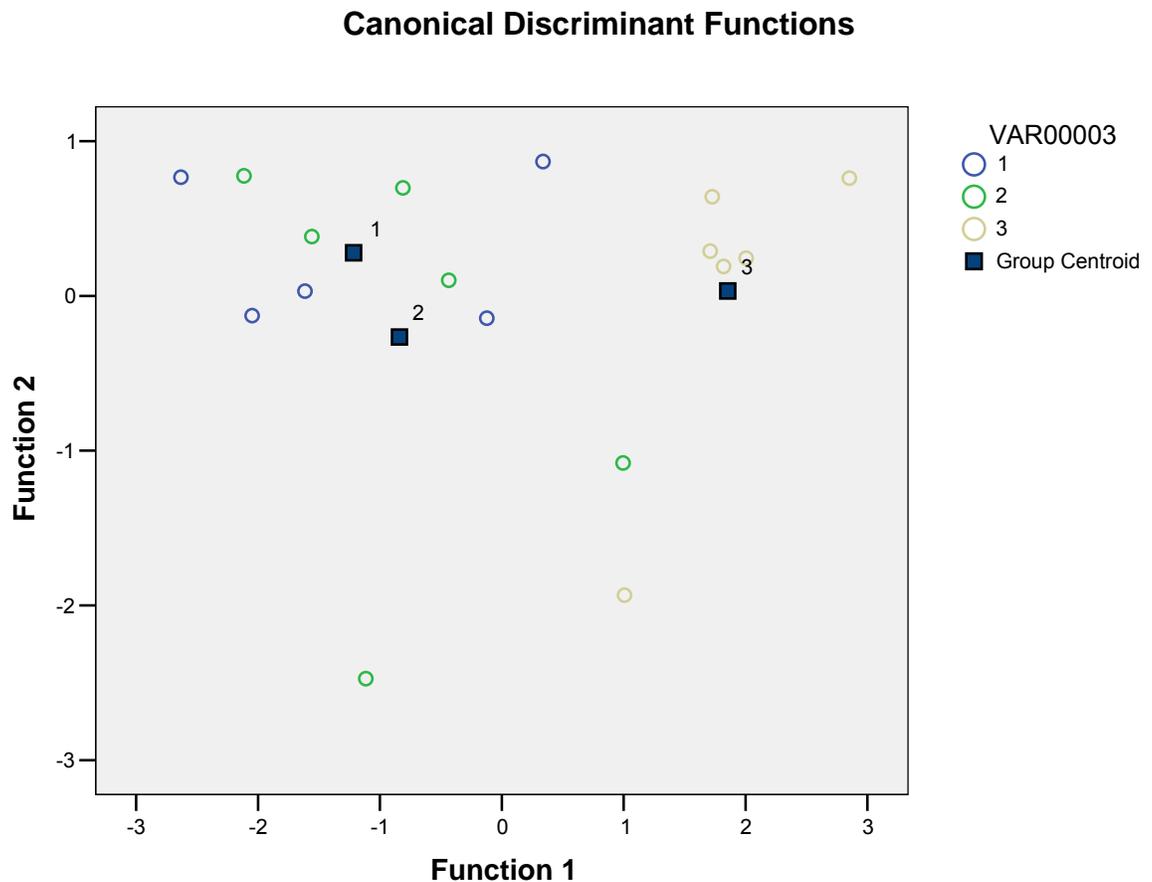


APLICACIÓN DE ANÁLISIS DISCRIMINANTE A OTRAS VARIABLES DE INTERES

DAÑO HISTOLÓGICO Y MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA AL FINAL DEL TRATAMIENTO

En el momento que se concluyó el tratamiento no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre estas variables y el exceso de omega 3 y 6. Sin embargo el grupo "2" (doblemente suplementado) se separa perfectamente de los otros dos grupos, esto indica el efecto que posiblemente causó el exceso de ácidos grasos omega, que resultó en daño epitelial y menor morfología espermática normal en este grupo (Grafica 47). Salida de computadora de este análisis (Anexo XIII).

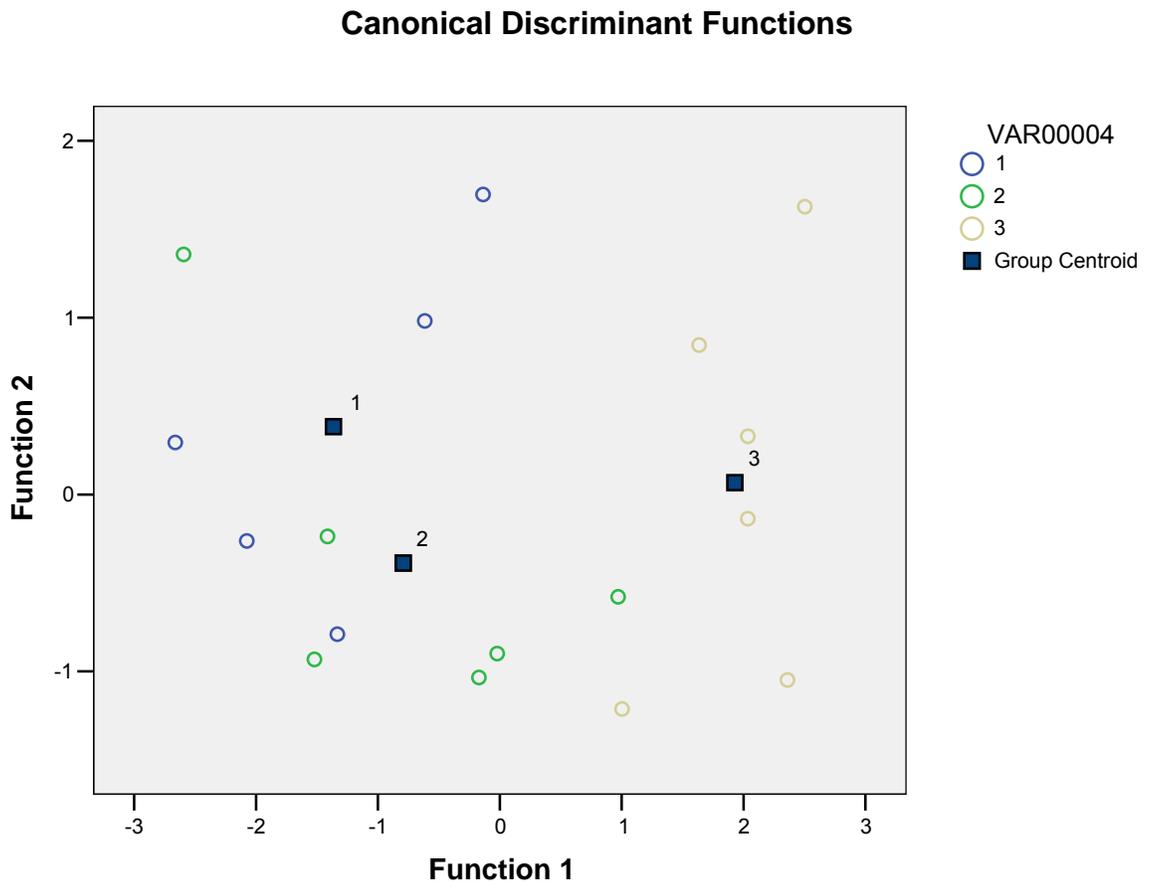
GRÁFICO 47



DAÑO HISTOLÓGICO Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA AL FINAL DEL TRATAMIENTO

Al final del tratamiento no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre estas variables y el exceso de omega 3 y 6 en la dieta. Sin embargo los grupos tienden a separarse, indicando un efecto negativo del exceso de omega 3 y 6 sobre el daño epitelial y la concentración espermática (Gráfica 48). Salida de computadora de este análisis (Anexo XIV).

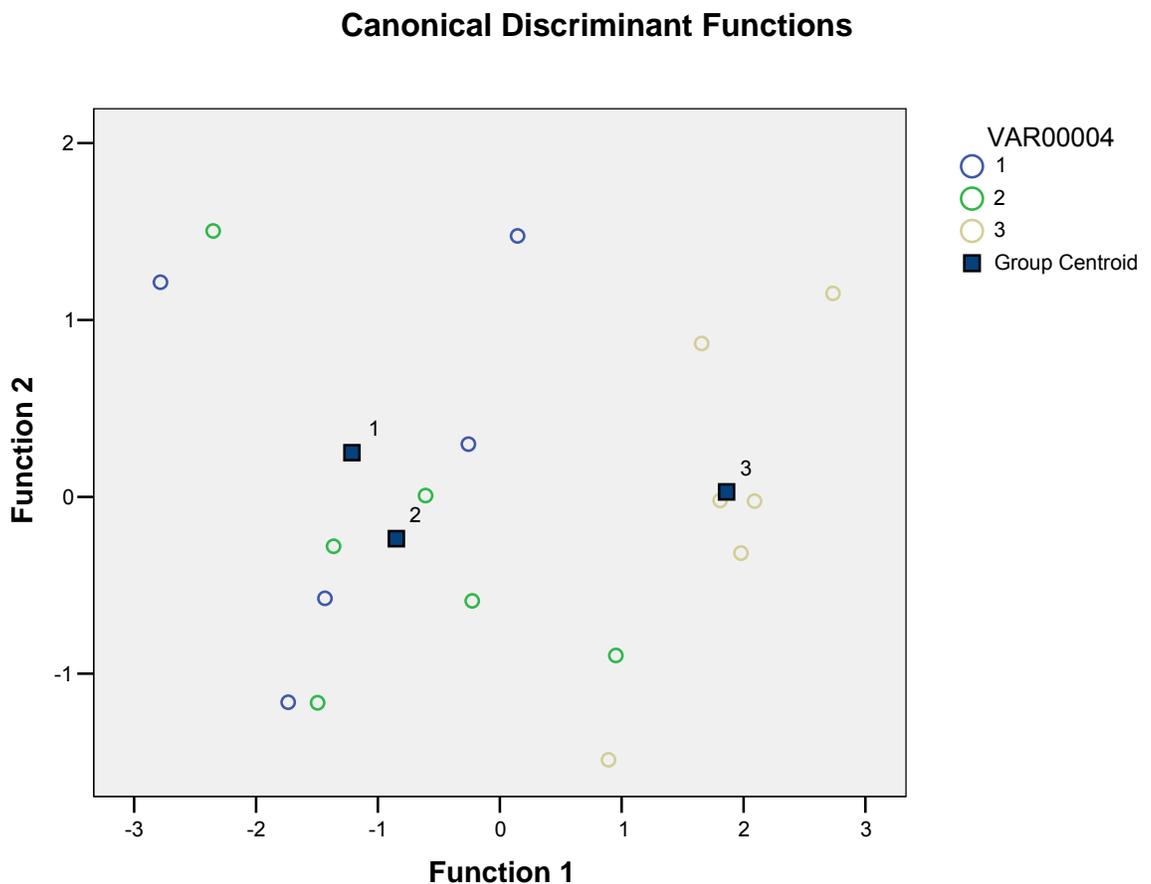
GRÁFICO 48



DAÑO HISTOLÓGICO Y DAÑO ACROSOMAL AL FINAL DEL TRATAMIENTO

Al final del tratamiento no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre estas variables y el exceso de omega 3 y 6 en la dieta. Sin embargo el grupo "2" (doblemente suplementado) se separa perfectamente de los otros dos grupos, indicando el posible efecto negativo del exceso de omegas sobre daño en el epitelio seminífero y el daño acrosomal (Gráfica 49). Salida de computadora de este análisis (Anexo XV).

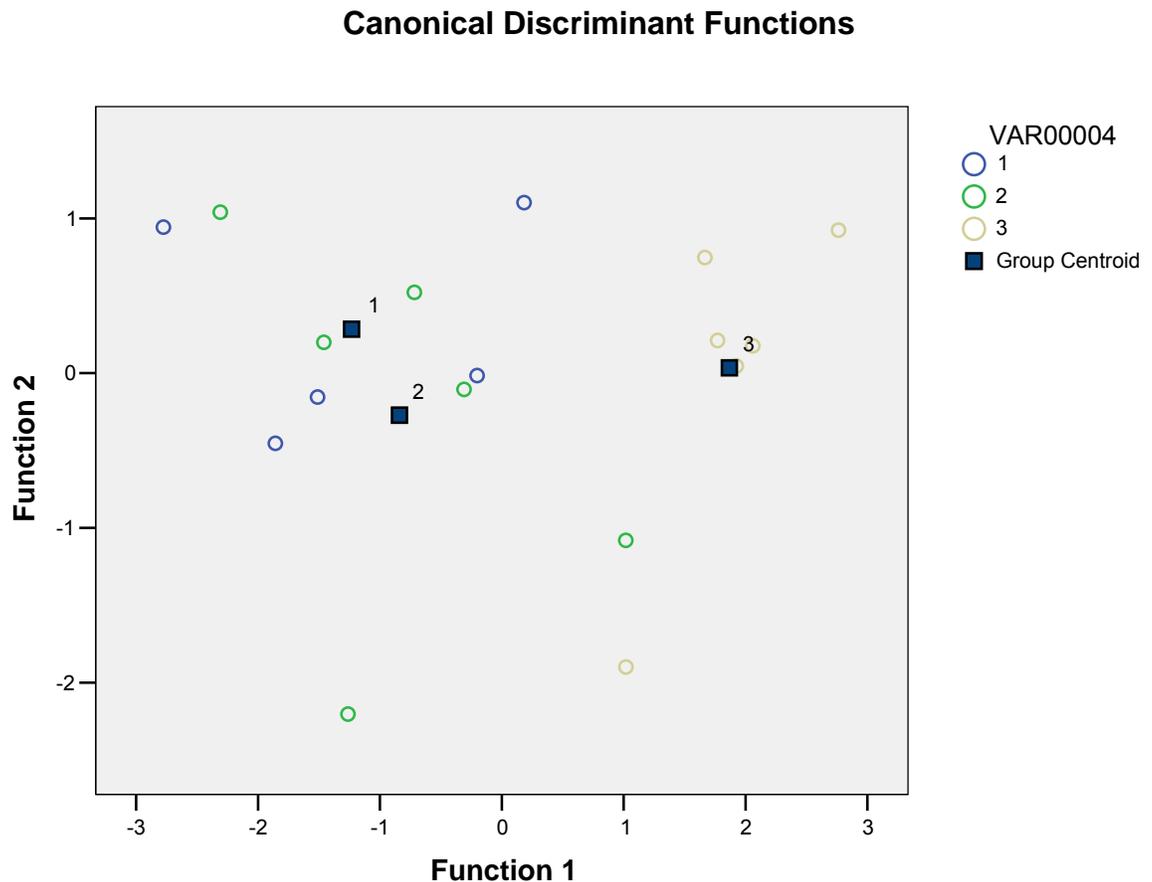
GRÁFICO 49



DAÑO HISTOLÓGICO, MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA Y DAÑO ACROSOMAL AL FINAL DEL TRATAMIENTO

Al final del tratamiento no se encontró evidencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre estas variables y el exceso de omega 3 y 6 en la dieta. Se incluyeron tres variables, donde se observó que gráficamente una vez más el grupo doblemente suplementado se separa de los otros dos, indicando el posible efecto negativo del tratamiento sobre estas variables (Gráfica 50). Salida de computadora de este análisis (Anexo XVI).

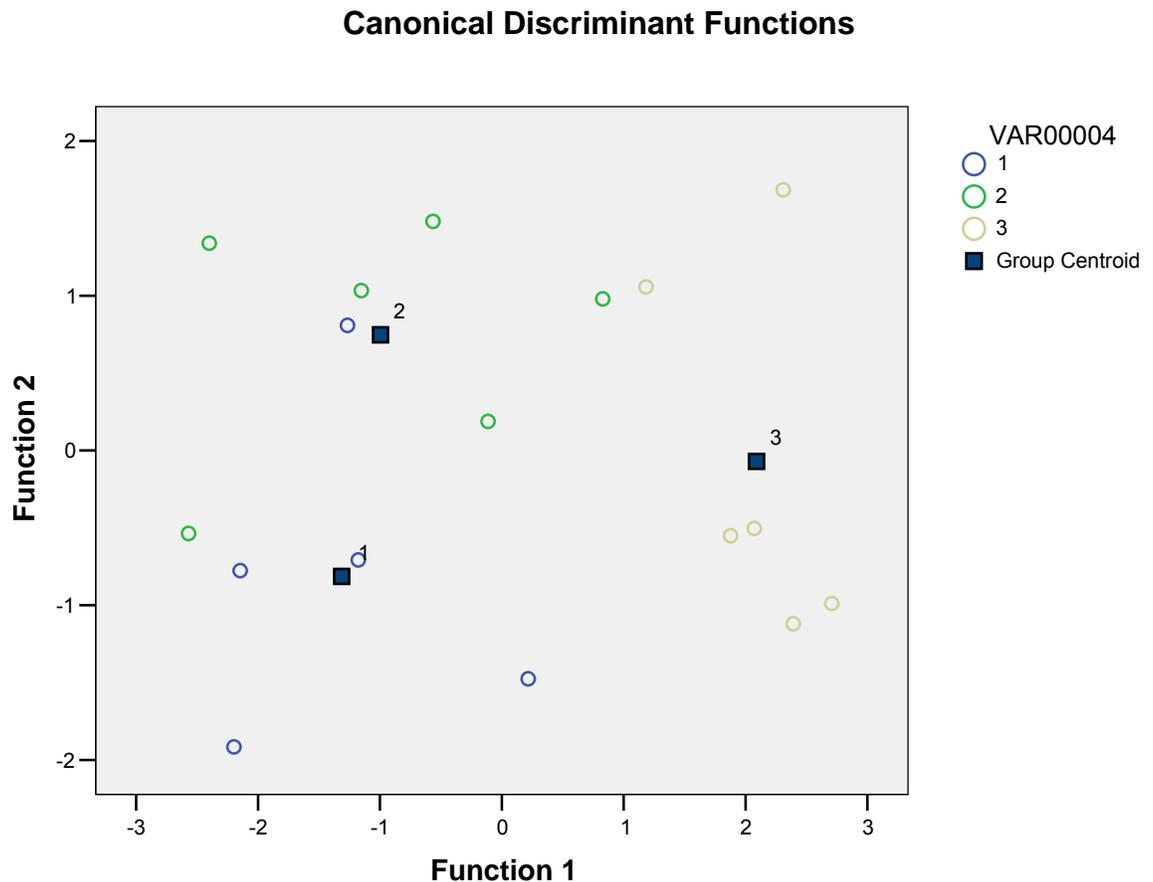
GRÁFICO 50.



DAÑO HISTOLÓGICO, T4, MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA, DAÑO ACROSOMAL Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA AL FINAL DEL TRATAMIENTO

Al aplicar el análisis a estas cinco variables gráficamente se observó claramente la tendencia de los tres grupos a separarse, indicando el posible efecto negativo que tiene el tratamiento (suplemento de omega 3 y 6) sobre el daño en el epitelio seminífero y las demás variables, sin embargo no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$). Gráfica 51. Salida de computadora de este análisis (Anexo XVII).

GRÁFICO 51.



4.2 ANALISIS ESTADÍSTICO CON T-STUDENT

4.2.1 ANALISIS PARA EL DAÑO HISTOLÓGICO

El objetivo de esta prueba es determinar la diferencia de medias entre grupos, de las variables analizadas.

Para este análisis estadístico la prueba T-Student se realizó por pares y sólo con los datos obtenidos al final del tratamiento.

Grupo "Control". Corresponde al no tratado con omega 3 y 6

Grupo "1". Corresponde al suplementado con omega 3 y 6

Grupo "2". Corresponde al doblemente suplementado con omega 3 y 6

GRUPO "Control vs 1"

Cuando se realizó la prueba de T-Student para determinar si existe alguna diferencia entre los tres grupos del experimento, entre el grupo "0" y "1" no se encontró diferencia estadística significativa ($P=.762$). Por lo tanto no se observó ninguna diferencia en el daño histológico entre el grupo control y el grupo "1" por causa del suplemento con omega 3 y 6. Salida del análisis por computadora (Anexo XVIII).

GRUPO "1 vs 2"

Cuando se aplicó la prueba T-Student a los grupos "1" y "2" si se encontró diferencia estadística significativa ($P=.000$). Por lo tanto entre estos grupos el daño histológico es mayor en el grupo "2" (doblemente suplementado con omega 3 y 6) que en el grupo "1" (suplementado con omega 3 y 6). Lo cual indica que a mayor dosis de omega 3 y 6 en la dieta, el daño en el epitelio seminífero es mayor. Salida del análisis por computadora (Anexo XVIII).

GRUPO "Control vs 2"

Al realizar la prueba de T-Student entre los grupos "0" y "2" sí se encontró diferencia estadística significativa ($P=.001$). Por lo tanto el daño histológico en el grupo "2" (doblemente suplementado con omega 3 y 6) es mayor al daño histológico observado en el grupo control, a causa del exceso de omegas en la dieta. Salida del análisis por computadora (Anexo XVIII).

4.2.2 ANÁLISIS PARA LA CONCENTRACIÓN DE T4

Para esta prueba se consideraron todos los datos obtenidos para cada uno de los muestreos, aunque en este apartado solo se describen los que resultaron estadísticamente significativos. Cuando se realizó la prueba de T-Student para los resultados de concentración de T4, se encontró evidencia estadística significativa ($P=0.045$) sólo entre los grupos “1 y 2”, no así entre los grupos “Control y 1” y “Control y 2”, al final del tratamiento, así como cuando se realizó la prueba a los datos del muestreo cuatro también se había encontrado evidencia estadística significativa ($P=0.010$) entre los grupos “Control y 2”. Por lo tanto podemos decir que se encontró evidencia estadística significativa para decir que en el grupo doblemente suplementado (Grupo “2”) tiene valores de menor concentración de T4 que el grupo control y que el suplementado (Grupo “1”). Ver salida de análisis por computadora anexo XIX y XXI.

4.3 ESTADÍSTICO CON ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

4.3.1 ANÁLISIS PARA EL DAÑO HISTOLÓGICO

Cuando se realizó esta prueba estadística a esta variable se encontró evidencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los grupos, coincidiendo con el resultado encontrado en la prueba de T-Student, y confirmando el efecto negativo del exceso de omega 3 y 6 sobre el daño en el epitelio seminífero. Salida de computadora (Anexo XXVI).

4.3.2 ANÁLISIS PARA LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

Para esta variable se realizó el ANOVA para cada uno de los muestreos de la investigación. En el muestreo 4 y 6 se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los grupos según la prueba de T-Student, no coincidiendo con el resultado encontrado en la prueba de ANOVA, donde no se observó en ninguno de los muestreos efecto significativo.

4.3.3 ANÁLISIS PARA LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

Cuando se aplicó el ANOVA a esta variable, se encontró en el Muestreo 5 evidencia estadística significativa ($P < 0.05$), para poder decir que el exceso de omega 3 y 6 disminuyen la concentración espermática (ver Anexo XXVI).

4.3.4 ANÁLISIS PARA EL VOLÚMEN DEL EYACULADO

Cuando se aplicó el ANOVA a esta variable se encontró diferencia estadística significativa en varios muestreos y al final del tratamiento, sin embargo no se puede atribuir el resultado al exceso de los omegas (ver Anexo XXVI).

*El ANOVA se realizó para el resto de las variables consideradas en esta investigación, en cada uno de los muestreos, sin embargo los resultados no fueron estadísticamente significativos.

CAPITULO 5

“LA PACIENCIA ES LA DOTE DE LOS FUERTES”

CAPITULO 5. DISCUSIÓN

La Nutrición es un elemento fundamental para el éxito reproductivo, por lo que se asignó a cada animal según peso y edad su ración correspondiente, tal y como lo sugieren la AFFCO y RNC. La alimentación del perro debe ser suministrada según edad y actividad física (Dzanic, 1994; Bailoni y Cerchiaro, 2005; Bontempo, 2005), sin olvidar que se requiere información más precisa sobre los requerimientos para las diferentes etapas de la vida del perro, especialmente en cuanto a reproducción y mantenimiento (Morris y Rogers, 1994). En algunas especies incluida la cánida, existe evidencia de la variación del volumen testicular a través de las estaciones del año, ya que al acercarse la época reproductiva de las hembras los testículos aumentan su producción de esteroides y espermatozoides (Brown, 1997). Al suministrar dietas mal balanceadas, deficientes o excedidas en algunos elementos se está propiciando que además de otros sistemas, el reproductivo no funcione adecuadamente (Ullrey and Bernard, 1989). Los animales con balance energético negativo, reparten sus energías restantes entre varios procesos y la consumen de acuerdo a las prioridades que maximicen sus oportunidades para sobrevivir y optimizar a largo plazo el éxito reproductivo (Wade, 1999).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto que tienen los ácidos grasos omega 3 y 6 en los procesos reproductivos del perro, estos nutrientes poco investigados en cuanto a reproducción, se les ha considerado importantes en muchos procesos fisiológicos. En cuanto a la deficiencia en la dieta de omega 3 y 6 se ha observado que en concentraciones bajas de ácidos grasos poliinsaturados baja la actividad de la 5α -reductasa, disminuyendo la conversión de testosterona a 5α -dihydrotestosterona. Por lo tanto los ácidos grasos poliinsaturados pueden jugar un rol importante en la regulación de la acción de andrógenos en células blanco (Liang y Liao, 1992). El ácido α -linolénico está involucrado en la regulación de la enzima 6 desaturasa, cuando son ingeridas cantidades suficientes, se permite el buen equilibrio del metabolismo de los ácidos grasos esenciales (AGE). Los efectos específicos de los omega 3 y 6 en reproducción canina han sido poco investigados, sin embargo en otras especies se han observado resultados muy interesantes. En ratas suplementadas con ácido linoleico (AL) y linolénico (ALL) el desarrollo testicular después de 63 semanas fue normal, pero en ratas con deficiencia en omega 3 los testículos estuvieron reducidos en tamaño y se les observó histológicamente degeneración de los túbulos seminíferos, con pérdida progresiva de células germinales y de espermatozoides en el lumen de los túbulos. Las células de Leydig no se vieron afectadas. En el análisis de ácidos grasos los testículos atrofiados presentaron una reducción en el porcentaje de AA y DPA en el total de ácidos grasos, por lo tanto el ALL no puede remplazar al AL para el correcto desarrollo de los testículos de rata (Leat et al, 1983). En el presente trabajo cuando se suplementó la dieta con Omega 3 y 6 (124 mg y 92 mg para el grupo "1" y 248 mg y 184 mg para el grupo "2" respectivamente, se encontró evidencia estadística significativa ($P < 0.05$) en cuanto al daño del epitelio seminífero, es decir que con el exceso de omega 3 y 6 en la dieta se observó mayor daño en los grupos suplementados que en el grupo control (La dosis

recomendada en los suplementos comerciales esta alrededor de 105 mg de omega 3 y 20 mg de omega 6 dosis/día). Sin embargo siempre hubo células germinales, y en las células de Leydig no se observó ninguna anomalía morfológica. En otros trabajos en ratas de 7 a 9 semanas de edad que fueron suplementadas con omega 3 y 6 la maduración en el epitelio seminífero germinal fue normal (Ayala y Brenner, 1980). En ausencia absoluta de AGE la espermatogénesis se detiene por completo y existe una degeneración del epitelio seminífero, asimismo una deficiencia en grasas llega a producir disminución en la secreción de LH, alterando la espermatogénesis, la liberación y síntesis de andrógenos en el organismo se ve disminuida. Las deficiencias de los AGE en testículos producen una disminución en los ácidos grasos de las familias del Linoleato y el incremento de otros como los Oleatos (Ahluwala et al, 1967).

Altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados producen alteraciones en la espermatogénesis de los hombres, disminuyéndola y reduciendo la concentración espermática en los eyaculados. La cantidad de lípidos presentes en testículo está relacionada con la capacidad funcional de los testículos. Un testículo produce cantidades normales de células espermáticas si tiene bajas concentraciones de lípidos. Cuando la espermatogénesis está deteriorada las concentraciones de lípidos circulantes se encuentran elevadas así como también dentro de las células de Sertoli, además esto produce una disminución en los esteroides circulantes, producto del incremento de lípidos en las células intersticiales (Threlfall et al, 1996). En otros estudios se observó que carneros con baja fertilidad presentan altas concentraciones de ácidos grasos omega 6 y fosfolípidos testiculares, los que al ser tratados para bajar las concentraciones de lípidos tuvieron una adecuada respuesta (Judy J, 1968 citado por Threlfall et al, 1996).

Las características más importantes en la evaluación de un eyaculado por estar correlacionadas con la fertilidad, son la concentración, porcentaje de movilidad progresiva y la morfología espermática (Feldman y Nelson, 1996), en este estudio se incluyó el volumen del eyaculado. La suplementación con Vit. E y su relación con omega 3 y 6 (500 mg/perro/día), en perros se ha observado que incrementa la movilidad y concentración espermática y disminuye el porcentaje de defectos espermáticos (Hatamoto et al, 2006). En pollos también se concluyó que después de la suplementación con omega 3 (41.6 mg) y omega 6 (1.5 mg) las características seminales y la fertilidad mejoraron significativamente (Blesbois et al, 1997). En el presente trabajo se encontró, que el volumen del eyaculado durante todos los muestreos fue muy variable siendo estadísticamente significativo ($P < 0.05$) en la mayoría de ellos, incluyendo el primer muestreo, por esta razón no se puede asegurar que el exceso de omegas afecta de manera negativa el volumen del eyaculado, sin embargo en los últimos dos muestreos el volumen fue mejor en el grupo control que en los suplementados con omega 3 y 6, lo que podría sugerir un posible efecto negativo de estos omegas en dosis altas sobre el volumen total del eyaculado en los perros.

En esta investigación la movilidad espermática no presentó diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) entre el grupo control y los grupos suplementados con omega 3 y 6, sin embargo de forma numérica a partir del muestreo dos la movilidad

espermática fue mejor en el grupo control y así mismo en los demás muestreos. En un estudio realizado en Brasil al suplementar con omega 3 y 6 a perros adultos la movilidad espermática progresiva mejoró de manera significativa estadísticamente (Rodrigues et al, 2005). Igual que los resultados anteriores y contrastantes a los de este trabajo, en ocelotes la movilidad espermática después de una suplementación con vitaminas A, C y D sin ser estadísticamente significativo mejoró 1.5 % al final del tratamiento (Ugas, 2004). En humanos la administración de omega 3 y 6 presenta una correlación con la movilidad espermática imperfecta en hombres infértiles (Comhaire y Mahmoud, 2003). Hay que tomar en cuenta que la movilidad espermática se toma bajo el criterio del evaluador que en este trabajo siempre fue el mismo.

La concentración espermática encontrada en este trabajo si presentó diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre los grupos, se observó que a partir del muestreo dos el grupo control tuvo mejores concentraciones espermáticas que los grupos suplementados con omega 3 y 6, por lo tanto estos resultados sugieren que las dosis dadas a los grupos suplementados afectan de manera negativa la concentración espermática en perros. Contrario a lo encontrado en este estudio los resultados reportados en un estudio realizado en Brasil indican que la concentración espermática en perros adultos mejoró significativamente al ser suplementados con omega 3 y 6 (Rodrigues et al, 2005), también en este parámetro el estudio con ocelotes es contrastante, pues la concentración espermática se vio favorecida con el suplemento de media tableta Centrum que contiene vitaminas A, D y E elementos a los que se les ha encontrado una estrecha relación con los ácidos grasos esenciales, por lo que no se le puede atribuir este efecto solo a los omegas, el efecto llegó a ser estadísticamente significativo (Ugas, 2004). No debe dejar de considerarse que en perros la concentración espermática disminuye cuando la eyaculación se obtiene de manera diferente a la manipulación digital (Kojima et al, 2001).

La morfología espermática normal en nuestro trabajo tampoco tuvo relevancia estadística significativa ($P > 0.05$) entre sus grupos, sin embargo se observó que a partir del muestreo dos el grupo control tuvo menor número de células anormales que los grupos suplementados y a partir del muestreo tres el número de acrosomas normales fue mayor en el grupo control manteniéndose así en el resto de los muestreos. Estos resultados pueden indicar que la suplementación de omega 3 y 6 en la dieta de los perros con las dosis dadas en esta investigación afecta de forma negativa tanto la morfología espermática como el estado del acrosoma. Diferente a nuestros resultados cuando se suplementó con media tableta de Centrum a un grupo de ocelotes la morfología espermática normal se incrementó levemente sin ser significativa a nivel estadístico (Ugas, 2004).

La testosterona es una hormona esencial en el funcionamiento correcto del sistema reproductivo en cualquier especie animal, en este trabajo fueron analizadas bajo la prueba estadística T-student las concentraciones de testosterona durante todos los muestreos, en donde fue significativo estadísticamente en el muestreo "4" ($P = 0.010$) y también al final del tratamiento ($P = 0.045$), a través de la investigación se observó una clara tendencia en la

disminución de la concentración de la hormona en el grupo doblemente suplementado (Grupo 2), esto a partir del muestreo uno. El grupo control y el suplementado (Grupo 1) tuvieron concentraciones muy similares a lo largo de todos los muestreos. Por lo tanto nuestros resultados sugieren que un exceso de omega 3 y 6 en la dieta disminuye la producción de testosterona circulante. Las concentraciones de testosterona encontradas en este trabajo son menores a las consideradas como normales en perros por Koch et al, (2006) 1.2 a 2.4 ng/ml. y por Mishke et al, (2002) 1.9 a 3.7 ng/ml. Se ha sugerido que pueden darse bajos niveles de testosterona y LH por cambios lipídicos dentro de los testículos o por efecto directo sobre la pituitaria (Gambal, 1966). Además las restricciones de energía en la dieta retardan la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y LH (Williams, 1999).

El estrés contribuye de manera importante en la reducción de la fertilidad (Dawood et al, 2005). Sin duda los factores estresantes pueden modificar la producción de testosterona en los perros; en este trabajo se trató de minimizar al máximo los factores de estrés, pero el simple hecho de cambiar de ambiente sin duda resultó estresante para los integrantes de la investigación. Cuando se habla de estrés no podemos dejar a un lado el efecto de la hormona ACTH y del cortisol que en este trabajo no se midieron. En este trabajo ya se mencionó que se encontró un efecto negativo en los grupos suplementados con omega 3 y 6 sobre la producción de testosterona. Para explicar lo anterior diversos estudios han demostrado que el AL y α -ALL reduce los fosfolípidos totales y el contenido de colesterol de la membrana plasmática testicular, esto afecta la capacidad de unión entre los receptores de membrana y la LH. Las dietas ricas en ALL disminuyen la actividad de la adenilato ciclasa afectando la producción de LH; y la disminución de receptores de LH en la membrana es asociada a la baja producción de testosterona por células de Leydig. Los cambios en las concentraciones de fosfolípidos de la membrana alteran las propiedades físicas de la membrana testicular de manera que altera la accesibilidad de LH a los receptores del tejido testicular. (Sebokova et al, 1988). Estos mismos resultados los confirmó el autor en otro trabajo solo con omega 3 (Sebokova et al, 1990). Otro estudio encontró que las dietas ricas en AL y ALL disminuyeron la unión de testosterona a la globulina de unión a hormonas esteroideas (SHBG) en el plasma de hombres (Diver, 1993). También se ha observado que el AL en concentraciones fisiológicas inhibe la unión de testosterona a albúmina y SHBG y también de dihydrotestosterona (DHT) a albúmina, mientras que la unión de DHT a SHBG no es alterada, por lo tanto esto sugiere que el AL en concentraciones fisiológicas puede ser un importante regulador de testosterona en los tejidos (Mooradian et al, 1988). Sin embargo también existen datos de que el AA favorece la producción de testosterona por incremento en la producción del cAMP (Mercure y Van Der, 1995).

A través de análisis discriminante se observó el efecto del exceso de omega 3 y 6 sobre la concentración de testosterona y la concentración espermática, la cual no fue estadísticamente significativa ($P > 0.05$) en ninguno de los muestreos, sin embargo a partir del muestreo tres, los tres grupos del experimento presentan una

tendencia a separarse, indicando que existe una diferencia entre ellos a causa del tratamiento, y que posiblemente hay efecto sobre las variables.

Por otro lado cuando se analizaron estadísticamente la concentración de testosterona, concentración espermática y daño del epitelio seminífero, daño acrosomal y morfología espermática, a través de un análisis discriminante no se encontró diferencia estadística significativa ($P > 0.05$) para explicar que existe efecto del tratamiento sobre estas variables. Sin embargo la tendencia es clara y sugiere que estas variables sí guardan alguna relación y que probablemente el tiempo de tratamiento y tamaño de muestra no permitieron que el resultado fuera significativo.

CAPITULO 6

“EL TALENTO ES UNA CUALIDAD, EL CARÁCTER UNA VIRTUD”
CAPITULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

- Los ácidos grasos omega 3 y 6 sí influyen en el funcionamiento reproductivo del perro.

Un exceso de ácidos grasos omega 3 y 6 en la dieta del perro:

- Afecta de forma negativa el proceso de espermatogénesis.
- Provoca daño del epitelio seminífero.
- Disminuye la concentración circulante de testosterona.
- Disminuye la concentración espermática.
- La movilidad espermática puede verse afectada negativamente.
- Puede a aumentar el número de espermatozoides anormales.
- Puede aumentar el daño acrosomal en espermatozoides.
- Puede disminuir el volumen del eyaculado.

6.2 RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones se recomienda:

- Más tiempo en la fase de experimentación y una previa adaptación de los perros a las jaulas.
- Que el tamaño de muestra sea más grande.
- Aumentar el número de grupos y dar dosis diferentes de omega 3 y 6 con el fin de encontrar la concentración ideal de estos elementos para una mejor calidad seminal.
- Que los sujetos de experimentación pertenezcan a una misma raza, ya que la variación genética podría ser un factor importante en los resultados.

CAPITULO 7

LA MÁS DIFÍCIL DE LAS PROFESIONES ES "SER HOMBRE"
CAPITULO 7. LITERATURA CITADA

- Abba C, Mussa PP, Vercelli A, Raviri G. Essential fatty acids supplementation in different-stage atopic dogs fed on a controlled diet. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. Apr-Jun; 89(3-6):203-7. 2005.
- Ahluwala B., Pincus G, Colman RT. Essential fatty acid deficiency and its effects upon reproductive organs of male rabbits. *J. Nutrition* 92: 205-214; 1967.
- Álvarez, SAB. Zootecnia aplicada a la raza Rottweiler (Revisión bibliográfica). Tesis de licenciatura, México: Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán. UNAM. 1993.
- Attar-Bashi NM, Orzeszko K, Slocombe RF, Sinclair AJ. Lipids and FA analysis of canine prostate tissue. *Lipids*. Jun;38(6):665-8. 2003.
- Ayala S, Brenner RR, Dumm CG. Effect of polyunsaturated fatty acids of the alpha-linolenic series on the development of rat testicles. *Lipids*. Dec; 12(12):1017-24. 1977.
- Ayala S, Brenner RR. Effect of polyunsaturated fatty acids of the alpha-linolenic series in the lipid composition of rat testicles during development. *Acta Physiol Lat Am*; 30(3):147-52. 1980.
- Ayala S, Gaspar G, Brenner RR, Peluffo RO, Kunau W. Fate of linoleic, arachidonic, and docosa-7,10,13,16-tetraenoic acids in rat testicles. *J Lipid Res*. May; 14(3):296-305. 1973.
- Bailoni L, Cerchiaro I. The role of feeding in the maintenance of well-being and health of geriatric dogs. *Vet Res Commun*. Aug;29 Suppl 2:51-5. 2005.
- Beek, M.E. and Meistrich, ML. Spermatogenesis in retinol-deficient rats maintained on retinoic acid. *J Reprod Fertil*. Mar; 94(2): 327-36. 1992.
- Bensoussan K, Morales CR, and Hermo L. Vitamin E deficiency causes incomplete spermatogenesis and effects the structural differentiation of epithelial cells of the epididymis in the rat. *J Androl*. May-Jun; 19(3): 266-88. 1998.
- Bieri JG and Prival EL. Effect of deficiencies of alpha tocopherol, retinol and zinc on the lipid composition of rat testes. *J. Nutr*. 69: 55: 1966.

- Blesbois E, Lessire M, Grasseau I, Hallouis JM, Hermier D. Effect of dietary fat on the fatty acid composition and fertilizing ability of fowl semen. *Biol Reprod.* 56 (5):1216-20. 1997.
- Bontempo V. Nutrition and health of dogs and cats: evolution of petfood. *Vet Res Commun.* Aug;29 Suppl 2:45-50. 2005.
- Brousset H, D. M., Galindo M, F., Valdez P, R.A., Romano P, M., Schuneman A, A. Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. *Vet. Mex.*, 36 (3) 2005.
- Bujan, L. Environment and spermatogenesis. *Contracept Fétil Sex.* Jan;26(1): 39-48. 1998.
- Campbell KL and Dorn GP. Effects of oral sunflower oil and olive oil on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *Res Vet Sci.* Sep;53(2):172-8.1992.
- Carrión D y Medel P. Efecto de la nutrición del verraco sobre las características reproductivas. *Interacción Nutrición Reproducción en Ganado Porcino. XVII Curso de especialización FEDNA.* 1998.
- Case LP, Carey DP, Hirakawa DA. *Nutrición Canina y Felina. Manual para profesionales.* Harcourt-Brace, España. 1997.
- Chistiansen JI. *Reproducción en el perro y en el gato.* Buenos Aires, Argentina. Inter-Vet. 1989.
- Comhaire F and Mahmoud A. The rol of food supplements in the treatment of the infertile man. *Reproductive Biomedicine Vol. 7, No. 4 (Andrology Special Issue) 385-391; 2003.*
- D' Andrea CD. El origen del perro. Disponible en www.adiestramientocanino.com 2006.
- Dawood T, Williams MR, Fullerton MJ, Myles K, Schuijers J, Funder JW, Sudhir K, Komesaroff PA. Glucocorticoid responses to stress in castrate and testosterone-replaced rams. *Regul Pept.* Feb 15;125(1-3):47-53. 2005.
- Diver MJ. The effect of free fatty acids on the in-vitro binding of testosterone in human plasma: *J Endocrinol.* Feb;136(2):327-30. 1993.
- Dzanis DA. The Association of American Feed Control Officials Dog and Cat Food Nutrient Profiles: substantiation of nutritional adequacy of

complete and balanced pet foods in the United States. J Nutr. Dec;124(12 Suppl):2535S-2539S.1994.

- Esquivel LCF. Inseminación artificial en caninos. Estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura, México: Lic. Mrd. Vet. Y Zoot. FMVZ-UNAM. 1990.
- Feldman E. and Nelson R. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 2ª edition. W.B. Saunders, Philadelphia, USA. 1996.
- Fenske M. Adrenocorticotropin and cortisol induced changes of integrated corticosteroid and androgen plasma levels in male rabbits. Life Sci. 27: 2219-2221; 1980.
- Figueras MS. "Análisis Discriminante" 5 campus.com. estadística. Disponible en www.5campus.com/lección/discr. 2000.
- Flores GMA. Soporte nutricional del paciente con cáncer. Asociaciones de médicos veterinarios especialistas en pequeñas especies y los colegios de médicos veterinarios zootecnistas del área metropolitana de la cd. De México. 2002.
- Foreman D. Seminiferous tubule stages in the prairie dog (*Cynomys ludovicianus*) during the annual breeding cycle. Anat Rec. Mar;247(3):355-67.1997.
- Galina C, Saltiel A, Valencia J, Becerril J, Bustamante G, Calderón A, Duchateau A, Fernández S, Olgún A, Páramo R, Zarco L. Reproducción de animales domésticos. México, D.F. Limusa. 1986.
- Gambal D. Effect of hormones on the testicular lipids of vitamin A deficient rats. J. Nutr. 89: 203; 1966.
- Gunzel-Apel AR, Hille P, Hoppen HO. Spontaneous and GnRH-induced pulsatile LH and testosterone release in pubertal adult and aging male beagles. Theriogenology 41: 737-745. 1984.
- Hatamoto LK, Baptista Sobrinho CA, Nichi M, Barnabe VH, Barnabe RC, Cortada CN. Effects of dexamethasone treatment (to mimic stress) and Vitamin E oral supplementation on the spermogram and on seminal plasma spontaneous lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in dogs. Theriogenology.2006.

- Hernández JE y Fernández F. Reproducción de Siete Especies Domésticas. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. 1998.
- Ikeda I, Mitsui K, Imaizumi K. Effect of dietary linoleic, alpha-linolenic and arachidonic acids on lipid metabolism, tissue fatty acid composition and eicosanoid production in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. Dec;42(6):541-51.1996.
- Johnston SD. Performing a complete canine semen evaluation in a small animal hospital. *Vet Clin North Am*. 21: 545. 1991.
- Judy JK. Difference in the level of fertility among rams when measured by fertility and fecundity of ewes and methods for predicting this trait. PhD Dissertation, Ohio State University, 1968.
- Karnovsky MJ. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol*. 27: 137A. 1965.
- Koch A, Hoppen HO, Dieleman SJ, Kooistra HS, Gunzel-Apel AR. Effects of the dopamine agonist cabergoline on the pulsatile and TRH-induced secretion of prolactin, LH, and testosterone in male beagle dogs. *Theriogenology*. May;65(8):1666-77.2006.
- Kojima E, Tsuruga H, Komatsu T, Murase T, Tsubota T, Kita I. Characterization of semen collected from beagles and captive Japanese black bears (*Ursus thibetanus japonicus*). *Theriogenology*. Feb 1;55(3):717-31.2001.
- Kronfeld DS, Atkins TO, Downey RL. "Nutrition, Anaerobic and Aerobic Exercise, and Stress." *Nutrition of the Dog and Cat*, Ed. Burger, I.H., Rivers, J. P. W. New York: Cambridge University Press, pp. 133 - 45. 1989.
- Kronfeld DS. Dietary management of chronic renal disease in dogs: a critical appraisal. *J Sm Anim Pract* 34: 211-219, 1993.
- Leat WM, Northrop CA, Harrison FA, Cox RW. Effect of dietary linoleic and linolenic acids on testicular development in the rat. : *Q J Exp Physiol*. Apr; 68(2):221-31.1983.
- Liang T, Liao S. Inhibition of steroid 5 alpha-reductase by specific aliphatic unsaturated fatty acids. *Biochem J*. Jul 15;285 (Pt 2):557-62. 1992.

- MacDonald ML, Rogers QR, Morris JG, Cupps, P.T. Effects of linolenate and arachidonate deficiencies on reproduction and spermatogenesis in the cat. *J. Nutr.* 114: 719-726; 1984.
- Macias ZJG. Evaluación de semen. *Revista virtual. Visión Veterinaria.* 2(12):www.visionveterinaria.com 2003.
- Marzouki ZM and Coniglio JG. Effect of essential fatty acid deficiency on lipids of rat Sertoli and germinal cells. *Biol Reprod.* Sep;27(2): 312-5. 1982.
- Mata de Urquiza, Liu S, Sjoberg M. Docosahexaenoic acid, a ligand for the retinoid x receptor in mouse brain. *Science.* 290: 2140-4. 2000.
- Mercure F, Van Der Kraak G. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. *Lipids.* Jun; 30(6):547-54.1995.
- Middleton SJ, Naylor S, Woolner J, Hunter JO. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of essential fatty acid supplementation in the maintenance of remission of ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* Jun; 16(6):1131-5.2002.
- Mischke R, Meurer D, Hoppen HO, Ueberschar S, Hewicker-Trautwein M. Blood plasma concentrations of oestradiol-17beta, testosterone and testosterone/oestradiol ratio in dogs with neoplastic and degenerative testicular diseases. *Res Vet Sci.* Dec;73(3):267-72. 2002.
- Mooradian AD, Pamplona DM, Viosca SP, Korenman SG. Effect of free fatty acids on the bioavailability of plasma testosterone and dihydrotestosterone. *J Steroid Biochem.* Mar;29(3):369-70. 1988.
- Morris JG, Rogers QR. Assessment of the nutritional adequacy of pet foods through the life cycle. *J Nutr.* Dec;124(12 Suppl):2520S-2534S. 1994.
- Mueller RS, Fettman MJ, Richardson K, Hansen RA, Miller A, Magowitz J, Ogilvie GK. Plasma and skin concentrations of polyunsaturated fatty acids before and after supplementation with n-3 fatty acids in dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res.* May;66(5):868-73. 2005.
- Nelson WR y Couto G. *Medicina interna de animales pequeños.* Inter-Médica. 2ª ed. 955-956. 2000.
- Nett TM, Olson PNS. *Reproductive physiology of dogs and cats. Textbook of veterinary internal medicine.* 1983.

- Nuñez CR y Caballero PP. Analisis de semen en infertilidad masculina. Fundación Puigvert. Barcelona. 2002.
- Olar TT. Relationship among testicular size, daily production and output of spermatozoa, and extragonadal spermatozoal reserves of the dog. *Biol Reprod.* 29: 1114. 1983.
- Olson PN. Concentrations of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in the serum of sexually intact and neutered dogs. *Am J Vet Res.* 53: 762. 1992.
- Ortlip SA, Li SA, Li JJ. Characterization of specific glucocorticoid receptors in the Syrian hamster testes. *Endocrinology.* 109; 1331-1338; 1981.
- Peters MA, de Rooij DG, Teerds KJ, van de Gaag I, van Sluijs FJ. Spermatogenesis and testicular tumours in ageing dogs. *J Reprod Fertil Suppl.*;57:419-21. 2001.
- Ramírez GMA. Bases para el manejo de las hembras cánidos desde el proestro al parto. (Revisión bibliográfica). Tesis de licenciatura, México: Facultad Estudios Superiores-Cuautitlán. UNAM. 1994.
- Remans PH, Sont JK, Wagenaar LW, Wouters-Wesseling W, Zuijderduin WM, Jongma A, Breedveld FC, Van Laar JM. Nutrient supplementation with polyunsaturated fatty acids and micronutrients in rheumatoid arthritis: clinical and biochemical effects. *Eur J Clin Nutr.* Jun;58(6):839-45. 2004.
- Rodrigues AC, Riuz CM, Nardo CDDD, Souza FF, Rossi FM, Sousa DB, Neto HA. The effect of food supplements with omega 3 and 6 in fresh semen quality of dogs. *Centro Universitario Rio Prieto. Brasil.* 2005.
- Sanderson SL, Finco DR, Pogrelis AD, Stacy LM, Unger CE. Owner impressions of three premium diets fed to healthy adult dogs. *J Am Vet Med Assoc.* Dec 15;227(12):1931-6. 2005.
- Sapolsky RM. Neuroendocrinology of the stress-response. In by J.B. Becker, S.M. Breedlove and D. Crews (Eds). *Behavior Endocrinology.* 287-324. Mit Press, Cambridge, MA. 1992.
- Sastry P. Lipids in the nervous tissue: composition and metabolism. *Prog lipid Res.* 24: 69-176. 1985.

- Scott DW, Miller WH Jr, Reinhart GA, Mohammed HO, Bagladi MS. Effect of an omega-3/omega-6 fatty acid-containing commercial lamb and rice diet on pruritus in atopic dogs: results of a single-blinded study. *Can J Vet Res.* Apr;61(2):145-53. 1997.
- Sebokova E, Garg ML, Clandinin MT. Modulation of receptor-mediated gonadotropin action in rat testes by dietary fat. *Am J Physiol.* Jun;254(6 Pt 1):E708-12. 1988.
- Sebokova E, Garg ML, Wierzbicki A, Thomson AB, Clandinin MT. Alteration of the lipid composition of rat testicular plasma membranes by dietary (n-3) fatty acids changes the responsiveness of Leydig cells and testosterone synthesis. : *J Nutr.* Jun;120(6):610-8. 1990.
- Secretaría de Obras y Servicios. Gobierno del Distrito Federal. Disponible en www.obras.df.gob.mx 2006.
- Sellmayer A, Koletzko B. Long chain polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in infants. *Lipids.* 34: 199-205. 1999.
- Shirley Johnstan D. *Canine and Feline Theriogenology.* Saunders Company. 2001.
- Simopoulos AP and Robinson J. *The omega plan: The medically proven diet that restores your body's essential nutritional balance.* New York. 1998.
- Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr.* 54: 438-63. 1991.
- Spector A. Essentiality of fatty acids. *Lipids.* 34: 1-3. 1999.
- Sprecher H, Luthria DL, Mohamed BS. Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *J Lipid Res.* 36: 2471-7. 1995.
- Talbot P, Chacon RS. A new procedure for rapidly scoring acrosome reactions of human sperm. *Gamete Res.* 3:211-216. 1980.
- Threlfall WR and Lepine AJ. The influence of diet on sperm quality and quantity. In: *Recent advance in canine and feline Nutritional Research; proceeding of the 1996, IAMS International Nutrition Symposium.* Eds. By D.P. Carey, S.A. Norton, S.M. Bolser. Orange Frazer Press. Wilmington Ohio, USA. 99-114. 1996.

- Ugaz RCM. Efecto de la suplementación alimenticia sobre la calidad seminal de los ocelotes (Leopardos pardales) en cautiverio. Tesis: Maestría en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal. FMVZ-UNAM. México D.F. 2004.
- Ullrey DE and Bernard JB. Vitamin D: Metabolism, Sources, Unique Problems in Zoo Animals, Meeting Needs. Zoo and Wild Animal medicine. 4ª Ed, chapter 11. Pensilvania. 1999.
- Ullrey DE and Bernard JB. Meat diets for performing exotic cats. Journal Zoo and Wildlife Medicine. 20: 20-25; 1989.
- Valenzuela BA y Nieto KS. Acidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal. Rev Chil Pediatr 74 (2); 149-157. 2003.
- Van Gool CJ, Zeegers MP, Thijs C. Oral essential fatty acid supplementation in atopic dermatitis-a meta-analysis of placebo-controlled trials. Bi J Dermatol. Apr; 150(4):728-40. 2004.
- Van Pelt AMM, De Rooij DJ. Retinoic acid is able to reinitiate spermatogenesis in Vit-A deficient rats and High replicate doses support the full development of spermatogenic cell. Endocrinology. 128; 2 697-704. 1991.
- Viguera VRM, Reyes TG, Santamaría D, Moreno MN, Rojas CJC. Alopurinol inhibitors suppress testicular germ cell degeneration induced by experimental cryptorchidism. Reproductive Toxicology, 2006.
- Wade GN. Energy balance, effects on reproduction. In: E. Knobil and J.D. Nelly (Eds) Encyclopedia of Reproduction, Vol. 1, 1091-1100. Academic Press, San Diego. 1999.
- Welch TH, Kemper-Green CN, Livingstone KN. Stress and reproduction. In: E. Knobil and Neill (Eds). Encyclopedia of reproduction. Academic Press, San Diego. 662-674; 1999.
- Williams GL. Nutritional factor and reproduction. In: E. Knobil and J.D. Nelly. Encyclopedia of Reproduction. Academic Press, San Diego. Vol. 3. 412-422. 1999.
- Wilson DE and Reeder DAM. Manual de especies mamíferas del mundo. American Society of mammalogist and Smithsonian Institut. 1993. http://rpg_ficcao.sites.uol.com.br/Bestiario/Caes.htm

- Yuen AW, Sander JW, Fluegel D, Patsalos PN, Bell GS, Johnson T, Koepp MJ, Zambrano A. F y Diaz S.V. El radioinmunoanálisis y su control de calidad. Centro Nuclear de México "Nabor Carrillo". Edo. De México. 1996.
- Zhuang YH, Merja B, Timo Y, Tuohimaa P. Spermatogenesis in the vitamin A-deficient Rat: Possible interplay between retinoic acid receptors, androgen receptor and inhibin α -subunit. J Steroid Biochem. Molec. Biol. Vol. 60, No. 1-2, 67-76. 1997.

CAPITULO 8

*“SI TIENES UN TÍTULO UNIVERSITARIO, PUEDES ESTAR SEGURO DE UNA COSA...
¡QUE TIENES UN TÍTULO UNIVERSITARIO!*

CAPITULO 8. ANEXOS Y APÉNDICES

ANEXOS I

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO "0" PRELIMINAR 10/10/2005									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	19/10/2005	68	32	1	7	24	81	19
LOBITO	0	19/10/2005	89	11		1	10	95	5
JACK	0	19/10/2005	18	82	4	7	71	49	51
MANCHAS	0	19/10/2005	79	21	4		17	91	9
TORO	0	19/10/2005	95	5	1		4	98	2
LUCAS	0	19/10/2005	99	1			1	97	3
SEBASTIAN	1	19/10/2005	83	17		3	14	87	13
NEGRO	1	19/10/2005	82	18		2	16	91	9
TREPA	1	19/10/2005	87	13		6	7	95	5
CHILLÓN	1	19/10/2005	92	8		3	5	97	3
TERRY	1	19/10/2005	94	6			6	96	4
KAISER	1	19/10/2005	95	5			5	96	4
SHRECK	2	19/10/2005	91	9		1	8	94	6
TOTO	2	19/10/2005	98	2			2	94	6
ESCANDALO	2	19/10/2005	54	46	6	13	27	84	16
BETO	2	19/10/2005	83	17	4	2	11	87	13
LOBO	2	19/10/2005	97	3			3	99	1
RUSO	2	19/10/2005	95	5		1	4	99	1

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS II

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 1 29/10/2005									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	01/11/2005	74	26	2	6	18	95	5
LOBITO	0	01/11/2005	92	8		2	6	98	2
JACK	0	01/11/2005	41	59	17	2	40	61	39
MANCHAS	0	01/11/2005	61	39		10	29	87	13
TORO	0	01/11/2005	86	14		2	12	93	7
LUCAS	0	01/11/2005	92	8	2		6	94	6
SEBASTIAN	1	01/11/2005	88	12		2	10	93	7
NEGRO	1	01/11/2005	87	13		4	9	96	4
TREPA	1	01/11/2005	94	6			6	95	5
CHILLÓN	1	01/11/2005	98	2			2	100	0
TERRY	1	01/11/2005	98	2			2	97	3
KAISER	1	01/11/2005	98	2			2	92	8
SHRECK	2	01/11/2005	90	10		3	7	99	1
TOTO	2	01/11/2005	93	7		1	6	91	9
ESCANDALO	2	01/11/2005	37	63	2	4	57	71	29
BETO	2	01/11/2005	89	11		3	8	91	9
LOBO	2	01/11/2005	89	11			11	97	3
RUSO	2	01/11/2005	98	2			2	97	3

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS III

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 2 29/11/2005									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	02/12/2005	88	12		3	9	82	18
LOBITO	0	02/12/2005	96	4		1	3	83	17
JACK	0	02/12/2005	78	22	3	2	17	87	13
MANCHAS	0	02/12/2005	72	28	2	7	19	80	20
TORO	0	02/12/2005	97	3	1		2	96	4
LUCAS	0	02/12/2005	96	4			4	91	9
SEBASTIAN	1	02/12/2005	93	7	1	2	4	88	12
NEGRO	1	02/12/2005	79	21		7	14	89	11
TREPA	1	02/12/2005	36	64	3	6	55	74	26
CHILLÓN	1	02/12/2005	90	10		1	9	92	8
TERRY	1	02/12/2005	94	6	1		5	95	5
KAISER	1	02/12/2005	93	7	1	2	4	88	12
SHRECK	2	02/12/2005	89	11	1	4	6	92	8
TOTO	2	02/12/2005	91	9		3	6	93	7
ESCANDALO	2	02/12/2005	9	91	2	6	83	82	18
BETO	2	02/12/2005	89	11		2	9	90	10
LOBO	2	02/12/2005	97	3			3	94	6
RUSO	2	02/12/2005	96	4		1	3	97	3

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS IV

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 3 29/12/2005									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	03/12/2005	81	19	1	4	14	91	9
LOBITO	0	03/12/2005	80	20	2	1	17	94	6
JACK	0	03/12/2005	77	23	1	17	5	92	8
MANCHAS	0	03/12/2005							
TORO	0	03/12/2005	94	6		1	5	98	2
LUCAS	0	03/12/2005	91	9		2	7	96	4
SEBASTIAN	1	03/12/2005	90	10		1	9	97	3
NEGRO	1	03/12/2005	81	19	2	8	9	91	9
TREPA	1	03/12/2005	41	59	3	26	30	72	28
CHILLÓN	1	03/12/2005	93	7	1	2	4	98	2
TERRY	1	03/12/2005	88	12	1	2	9	97	3
KAISER	1	03/12/2005	97	3			3	99	1
SHRECK	2	03/12/2005	87	13	3	4	6	92	8
TOTO	2	03/12/2005	92	8			8	97	3
ESCANDALO	2	03/12/2005	69	31	3	4	24	87	13
BETO	2	03/12/2005	72	28	5	2	21	91	9
LOBO	2	03/12/2005	97	3			3	98	2
RUSO	2	03/12/2005	86	14	1	4	9	96	4

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS V

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 4 29/01/2006									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	02/01/2006	87	13	1	3	9	93	7
LOBITO	0	02/01/2006	96	4			4	98	2
JACK	0	02/01/2006	64	36		13	23	92	8
MANCHAS	0	02/01/2006							
TORO	0	02/01/2006	94	6		1	5	97	3
LUCAS	0	02/01/2006	93	7		2	5	96	4
SEBASTIAN	1	02/01/2006	92	8	3		5	93	7
NEGRO	1	02/01/2006	71	29		3	26	89	11
TREPA	1	02/01/2006	33	67	7	21	39	68	32
CHILLÓN	1	02/01/2006	89	11		3	8	92	8
TERRY	1	02/01/2006	69	31	4	7	20	86	14
KAISER	1	02/01/2006	91	9	1		8	98	2
SHRECK	2	02/01/2006	88	12	2	1	9	97	3
TOTO	2	02/01/2006	91	9		2	7	96	4
ESCANDALO	2	02/01/2006	36	74	3	19	52	79	21
BETO	2	02/01/2006	73	27	4	3	20	88	12
LOBO	2	02/01/2006	92	8	2	2	4	97	3
RUSO	2	02/01/2006	86	14	2	3	9	94	6

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS VI

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 5 28/02/2006									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	02/03/2006	79	21		2	19	93	7
LOBITO	0	02/03/2006	92	8		1	7	97	3
JACK	0	02/03/2006	71	29	1	12	16	91	9
MANCHAS	0	02/03/2006							
TORO	0	02/03/2006	93	7		1	6	97	3
LUCAS	0	02/03/2006	91	9		1	8	97	3
SEBASTIAN	1	02/03/2006	90	10	1	2	7	98	2
NEGRO	1	02/03/2006	41	59	2	17	40	90	10
TREPA	1	02/03/2006	19	81	2	51	28	92	8
CHILLÓN	1	02/03/2006	82	18		1	17	91	9
TERRY	1	02/03/2006	89	11		3	8	93	7
KAISER	1	02/03/2006	93	7			7	95	5
SHRECK	2	02/03/2006	79	21		9	12	94	6
TOTO	2	02/03/2006	86	14		1	13	93	7
ESCANDALO	2	02/03/2006	33	67		12	55	92	8
BETO	2	02/03/2006	88	12	2	3	7	94	6
LOBO	2	02/03/2006	96	4	1		3	98	2
RUSO	2	02/03/2006	86	14	2	3	9	92	8

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS VII

REGISTRO DE ANORMALIDADES Y DAÑO ACROSOMAL DE LAS CÉLULAS ESPERMÁTICAS. MUESTREO No. 6 03/2006									
NOMBRE	GRUPO	FECHA	% NORMALES	% ANORMALES	% CABEZA	% P. MEDIA	% COLA	ACROSOMA NORMAL %	ACROSOMA DAÑADO %
ARNO	0	18/03/2006	76	24	2	3	19	89	11
LOBITO	0	18/03/2006	94	6			6	97	3
JACK	0	18/03/2006	79	21	4	2	15	91	9
MANCHAS	0	18/03/2006							
TORO	0	18/03/2006	95	5		1	4	98	2
LUCAS	0	18/03/2006	75	25	2	4	19	94	6
SEBASTIAN	1	18/03/2006	86	14	1	5	8	92	8
NEGRO	1	18/03/2006	56	44	2	19	23	90	10
TREPA	1	18/03/2006	29	71	4	35	32	89	11
CHILLÓN	1	18/03/2006	80	20		4	16	91	9
TERRY	1	18/03/2006	92	8	1		7	93	7
KAISER	1	18/03/2006	94	6			6	98	2
SHRECK	2	18/03/2006	82	18		3	15	93	7
TOTO	2	18/03/2006	81	19	1	6	12	92	8
ESCANDALO	2	18/03/2006	39	61	3	24	34	88	12
BETO	2	18/03/2006	83	17		1	16	93	7
LOBO	2	18/03/2006	92	8		1	7	97	3
RUSO	2	18/03/2006	90	10		2	8	96	4

*En color naranja se resalta a los peores perros y en Amarillo a los mejores de este muestreo

ANEXOS VIII

CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA (T4) pg/ml INCLUYENDO TODOS LOS DATOS DE TODOS LOS MUESTREOS								
TRATAMIENTO	MUESTRO 0	MUESTRO 1	MUESTRO 2	MUESTRO 3	MUESTRO 4	MUESTRO 5	MUESTRO 6	
CONTROL	476	524	368	DECESO	DECESO	DECESO	DECESO	
CONTROL	471	432	300	573	717	518	430	
CONTROL	470	242	632	583	585	514	642	
CONTROL	580	198	498	342	548	386	382	
CONTROL	474	480	552	811	456	606	711	
CONTROL	347	448	647	1105	570	877	1011	
GRUPO 1	365	791	603	344	271	724	886	
GRUPO 1	691	562	291	312	759	682	548	
GRUPO 1	514	402	697	435	747	629	621	
GRUPO 1	565	274	232	220	221	418	409	
GRUPO 1	844	220	532	480	432	524	571	
GRUPO 1	668	161	838	703	891	959	958	
GRUPO 2	527	402	394	861	529	452	438	
GRUPO 2	505	267	212	208	248	333	223	
GRUPO 2	235	267	694	424	453	435	402	
GRUPO 2	462	423	367	271	336	542	397	
GRUPO 2	665	329	411	265	402	695	600	
GRUPO 2	633	100	317	171	235	330	539	
DECESO: MUERTE DE UN INTEGRANTE DEL GRUPO CONTROL								

ANEXOS IX

SALIDA DEL ESTADISTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA MUESTREO "0"

Summary of Canonical Discriminant Functions

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	.362 ^a	63.7	63.7	.515
2	.206 ^a	36.3	100.0	.413

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.609	7.192	4	.126
2	.829	2.714	1	.100

ANEXO X

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA MUESTREO "1"

Summary of Canonical Discriminant Functions

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	.526 ^a	99.3	99.3	.587
2	.003 ^a	.7	100.0	.059

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.653	6.174	4	.186
2	.997	.050	1	.823

ANEXO XI

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA MUESTREO "3"

Summary of Canonical Discriminant Functions

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	.760 ^a	99.9	99.9	.657
2	.001 ^a	.1	100.0	.027

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.568	7.641	4	.106
2	.999	.010	1	.922

ANEXO XII

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA Y DAÑO HISTOLÓGICO MUESTREO "6"

Summary of Canonical Discriminant Functions Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.693(a)	85.6	85.6	.854
2	.454(a)	14.4	100.0	.559

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.186	21.849	6	.001
2	.688	4.866	2	.088

ANEXO XIII

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

DAÑO HISTOLÓGICO Y MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.303(a)	97.5	97.5	.835
2	.058(a)	2.5	100.0	.235

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.286	16.898	4	.002
2	.945	.767	1	.381

ANEXO XIV

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

DAÑO HISTOLÓGICO Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.529(a)	95.5	95.5	.847
2	.119(a)	4.5	100.0	.326

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.253	18.540	4	.001
2	.894	1.517	1	.218

ANEXO XV

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANALISIS DISCRIMINANTE

DAÑO HISTOLÓGICO Y DAÑO ACROSOMAL

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.318(a)	98.0	98.0	.836
2	.047(a)	2.0	100.0	.211

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.288	16.806	4	.002
2	.955	.616	1	.433

ANEXO XVI

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

DAÑO HISTOLÓGICO Y MORFOLOGÍA Y DAÑO ACROSOMAL

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.340(a)	97.5	97.5	.837
2	.061(a)	2.5	100.0	.240

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.282	16.445	6	.012
2	.943	.768	2	.681

ANEXO XVII

SALIDA DEL ESTADÍSTICO ANÁLISIS DISCRIMINANTE

DAÑO HISTOLÓGICO Y T4 Y MORFOLOGIA Y DAÑO ACROSOMAL Y CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	2.914(a)	85.9	85.9	.863
2	.478(a)	14.1	100.0	.569

a First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis.

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1 through 2	.173	21.062	10	.021
2	.677	4.686	4	.321

ANEXO XVIII

SALIDA DEL ESTADÍSTICO T-STUDENT PARA EL DAÑO HISTOLÓGICO

GRUPO CONTROL vs GRUPO 1

Group Statistics

	VAR00004	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00003	1.00	5	1.4980	.32283	.14437
	2.00	6	1.5517	.24927	.10176

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
VAR00003	Equal variances assumed	.943	.357	-.312	9	.762	-.05367	.17217	-.44314	.33580
	Equal variances not assumed			-.304	7.484	.770	-.05367	.17664	-.46593	.35859

GRUPO 1 vs GRUPO 2*

Group Statistics

	VAR00004	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00003	2.00	6	1.5517	.24927	.10176
	3.00	6	2.2467	.21097	.08613

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper	
VAR00003	Equal variances assumed	.911	.362	-5.213	10	.000	-.69500	.13332	-.99205	-.39795
	Equal variances not assumed			-5.213	9.734	.000	-.69500	.13332	-.99316	-.39684

***ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO**

SALIDA DEL ESTADÍSTICO T-STUDENT PARA EL DAÑO HISTOLÓGICO

GRUPO CONTROL vs GRUPO 2*

Group Statistics

	VAR00004	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00003	1.00	5	1.4980	.32283	.14437
	3.00	6	2.2467	.21097	.08613

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
VAR00003: Equal variances assumed	2.825	.127	-4.639	9	.001	-.74867	.16140	-1.11378	-.38355
Equal variances not assumed			-4.453	6.677	.003	-.74867	.16811	-1.15012	-.34721

***ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO**

ANEXO XIX

SALIDA DEL ESTADÍSTICO T-STUDENT PARA LA CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA POR MUESTREO

MUESTREO "6"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	419.2000	165.93884	74.21011
	2.00	6	439.3333	139.81369	57.07870

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
VAR00001	Equal variances assumed	.028	.871	-.219	9	.832	-20.13333	92.02865	-228.317	188.04993
	Equal variances not assumed			-.215	7.916	.835	-20.13333	93.62221	-236.425	196.15816

MUESTREO "6"

GRUPOS 1 Y 2*

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	439.3333	139.81369	57.07870
	3.00	6	285.8333	86.42550	35.28306

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
VAR00001	Equal variances assumed	2.200	.169	2.288	10	.045	153.50000	67.10344	3.98421	303.01579
	Equal variances not assumed			2.288	8.334	.050	153.50000	67.10344	-.16722	307.16722

***ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO**

MUESTREO "6"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	419.2000	165.93884	74.21011
	3.00	6	285.8333	86.42550	35.28306

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.691	.226	1.720	9	.119	133.36667	77.51669	-41.98826	308.72160
	Equal variances not assumed			1.623	5.777	.158	133.36667	82.17076	-69.59743	336.33077

ANEXO XX

MUESTREO "5"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	382.7400	121.18409	54.19517
	2.00	6	432.8417	122.33766	49.94414

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.002	.964	-.679	9	.514	-50.10167	73.76949	-216.980	116.77652
	Equal variances not assumed			-.680	8.674	.514	-50.10167	73.69894	-217.780	117.57649

MUESTREO "5"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	432.8417	122.33766	49.94414
	3.00	6	306.5333	91.60702	37.39841

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.258	.623	2.024	10	.070	126.30833	62.39438	-12.71500	265.33167
	Equal variances not assumed			2.024	9.266	.073	126.30833	62.39438	-14.22251	266.83918

MUESTREO "5"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	382.7400	121.18409	54.19517
	3.00	6	306.5333	91.60702	37.39841

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.198	.667	1.190	9	.265	76.20667	64.05198	-68.68899	221.10232
	Equal variances not assumed			1.157	7.378	.283	76.20667	65.84647	-77.89231	230.30565

ANEXO XXI

MUESTREO "4"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	379.6100	61.67235	27.58072
	2.00	6	365.2333	186.38923	76.09309

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	15.677	.003	.164	9	.873	14.37667	87.73076	-184.084	212.83742
	Equal variances not assumed			.178	6.265	.865	14.37667	80.93734	-181.658	210.41086

MUESTREO "4"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	365.2333	186.38923	76.09309
	3.00	6	242.3000	76.47397	31.22037

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	13.460	.004	1.495	10	.166	122.93333	82.24882	-60.32847	306.19513
	Equal variances not assumed			1.495	6.637	.181	122.93333	82.24882	-73.73147	319.59814

MUESTREO "4"

GRUPOS CONTROL Y 2 *

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	379.6100	61.67235	27.58072
	3.00	6	242.3000	76.47397	31.22037

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.889	.370	3.226	9	.010	137.31000	42.55749	41.03827	233.58173
	Equal variances not assumed			3.296	8.999	.009	137.31000	41.65822	43.07039	231.54961

***ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO**

ANEXO XXII

MUESTREO "3"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	450.6100	190.03564	84.98652
	2.00	6	274.5000	110.99852	45.31496

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.628	.234	1.922	9	.087	176.11000	91.62389	-31.15763	383.37763
	Equal variances not assumed			1.829	6.197	.116	176.11000	96.31279	-57.75448	409.97448

MUESTREO "3"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	274.5000	110.99852	45.31496
	3.00	6	241.9083	169.71454	69.28567

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.613	.452	.394	10	.702	32.59167	82.78858	-151.873	217.05612
	Equal variances not assumed			.394	8.616	.703	32.59167	82.78858	-155.969	221.15278

MUESTREO "3"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	5	450.6100	190.03564	84.98652
	3.00	6	241.9083	169.71454	69.28567

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.146	.711	1.925	9	.086	208.70167	108.40873	-36.53592	453.93925
	Equal variances not assumed			1.903	8.190	.093	208.70167	109.65041	-43.13604	460.53938

ANEXO XXIII

MUESTREO "2"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	329.6917	92.96649	37.95341
	2.00	6	351.1483	154.65802	63.13887

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.414	.262	-.291	10	.777	-21.45667	73.66803	-185.599	142.68593	
	Equal variances not assumed			-.291	8.196	.778	-21.45667	73.66803	-190.631	147.71740	

MUESTRO "2"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	351.1483	154.65802	63.13887
	3.00	6	263.1000	106.40030	43.43774

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.270	.286	1.149	10	.277	88.04833	76.63781	-82.71136	258.80802	
	Equal variances not assumed			1.149	8.867	.281	88.04833	76.63781	-85.71622	261.81288	

MUESTREO "2"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	329.6917	92.96649	37.95341
	3.00	6	263.1000	106.40030	43.43774

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.023	.882	1.154	10	.275	66.59167	57.68274	-61.93349	195.11683
	Equal variances not assumed			1.154	9.823	.276	66.59167	57.68274	-62.24773	195.43106

ANEXO XXIV

MUESTREO "1"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	255.7917	88.36804	36.07610
	2.00	6	265.0167	157.44056	64.27484

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.579	.237	-.125	10	.903	-9.22500	73.70712	-173.455	155.00470
	Equal variances not assumed			-.125	7.866	.904	-9.22500	73.70712	-179.700	161.24960

MUESTREO "1"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	265.0167	157.44056	64.27484
	3.00	6	196.3667	77.42501	31.60863

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	2.620	.137	.958	10	.360	68.65000	71.62653	-90.94386	228.24386
	Equal variances not assumed			.958	7.285	.369	68.65000	71.62653	-99.38684	236.68684

MUESTREO "1"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	255.7917	88.36804	36.07610
	3.00	6	196.3667	77.42501	31.60863

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.467	.510	1.239	10	.244	59.42500	47.96447	-47.44650	166.29650
	Equal variances not assumed			1.239	9.830	.244	59.42500	47.96447	-47.69728	166.54728

ANEXO XXV

MUESTREO "0"

GRUPOS CONTROL Y 1

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	310.1333	48.77536	19.91246
	2.00	6	401.1333	108.93137	44.47104

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	3.903	.076	-1.868	10	.091	-91.00000	48.72555	-199.567	17.56730
	Equal variances not assumed			-1.868	6.927	.104	-91.00000	48.72555	-206.463	24.46275

MUESTREO "0"

GRUPOS 1 Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	2.00	6	401.1333	108.93137	44.47104
	3.00	6	333.1067	101.29353	41.35291

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	.166	.693	1.120	10	.289	68.02667	60.72674	-67.28094	203.33427
	Equal variances not assumed			1.120	9.948	.289	68.02667	60.72674	-67.37759	203.43092

MUESTREO "0"

GRUPOS CONTROL Y 2

Group Statistics

	VAR00002	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00001	1.00	6	310.1333	48.77536	19.91246
	3.00	6	333.1067	101.29353	41.35291

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
VAR00001	Equal variances assumed	1.733	.217	-.501	10	.628	-22.97333	45.89737	-125.239	79.29239
	Equal variances not assumed			-.501	7.200	.632	-22.97333	45.89737	-130.894	84.94747

ANEXO XXVI

ANÁLISIS DE VARIANZA*

VOLUMEN DEL EYACULADO FINAL DEL TRATAMIENTO

ANOVA

VOL.EYAC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	41.160	2	20.580	4E+032	.000
Within Groups	.000	15	.000		
Total	41.160	17			

CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA* MUESTREO "5"

ANOVA

conc.esp

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17389.879	2	8694.939	3.773	.049
Within Groups	32265.201	14	2304.657		
Total	49655.079	16			

DAÑO HISTOLÓGICO* FINAL DEL TRATAMIENTO

ANOVA

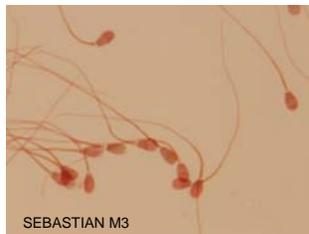
DAÑO HIST

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.017	2	1.009	14.861	.000
Within Groups	.950	14	.068		
Total	2.967	16			

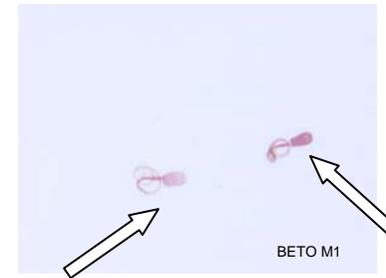
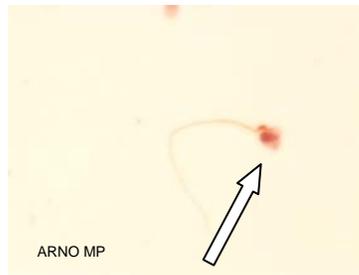
***ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO**

APÉNDICE 1

MORFOLOGÍA NORMAL



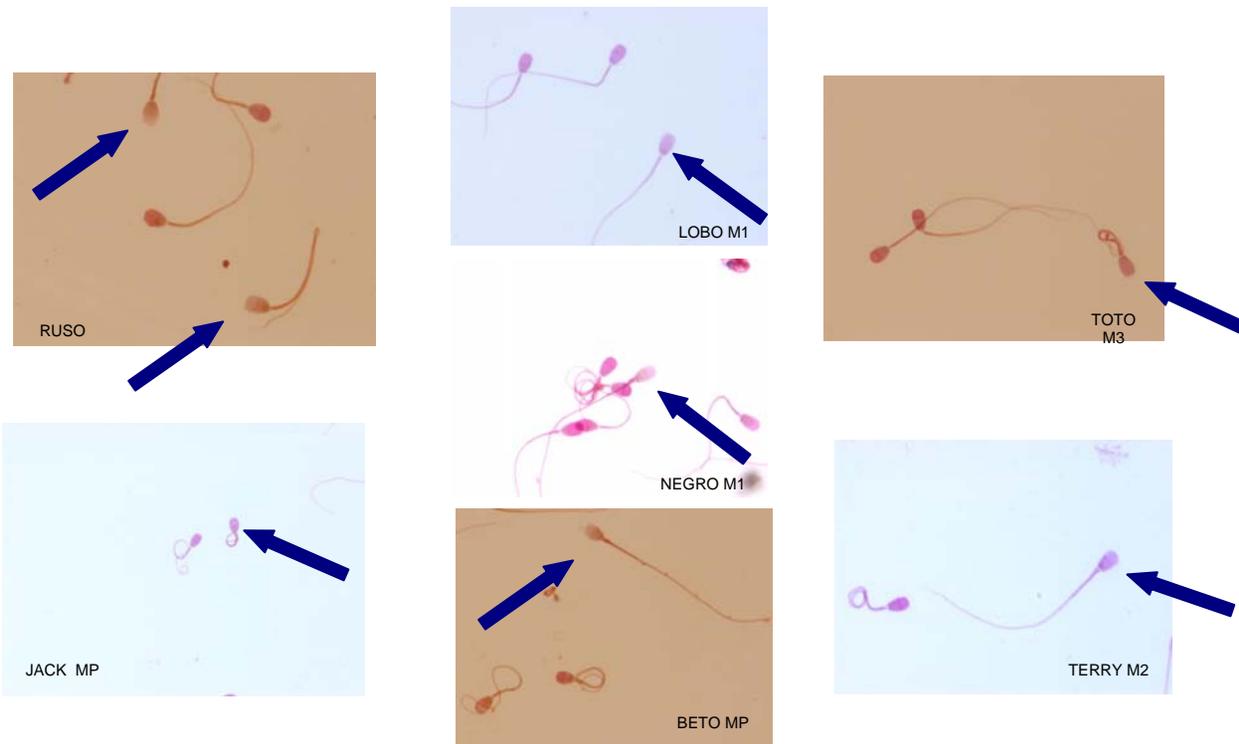
APÉNDICE 2
MORFOLOGÍA ANORMAL



LAS FLECHAS INDICAN LAS CÉLULAS CON ALGUNA ANORMALIDAD

APÉNDICE 3

ACROSOMAS NORMALES Y CON DAÑO



LAS FLECHAS INDICAN LAS CÉLULAS CON DAÑO ACROSOMAL

APÉNDICE 4

OBSERVACIONES PRELIMINARES

DATOS DEL PROPIETARIO

NOMBRE _____
DIRECCIÓN _____
TELEFONO _____
E-MAIL _____

DATOS DEL SUJETO DE ESTUDIO

NOMBRE _____
RAZA _____
EDAD _____
SEXO _____
FECHA DE NACIMIENTO _____
PESO _____
CONDICIÓN CORPORAL _____

ESTADO DE SALUD

CARNET DE VACUNACIÓN (ÚLTIMO AÑO)
VACUNAS APLICADAS

FECHA

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

DESPARASITACIONES

MEDICAMENTO

FECHA

_____	_____
_____	_____

ENFERMEDADES QUE HAYA CURSADO SI ES EL CASO

OBSERVACIONES GENERALES

ESTADO FÍSICO GENERAL

BUENO () REGULAR () MALO ()
CARACTERÍSTICAS DEL ESPACIO DONDE HABITA

RÉGIMEN DE ALIMENTACIÓN

ALIMENTACIÓN _____
CANTIDAD Y TIEMPO CONTROLADO ()
TIEMPO CONTROLADO ()
CANTIDAD CONTROLADA ()
LIBRE ACCESO ()

ACTIVIDAD SEXUAL

HA SIDO APAREADO SI() NO()
COMPORTAMIENTO SEXUAL
NORMAL (CORTEJO, JUGUETEO, INTROMISIÓN) SI() NO()
OBSERVACIONES _____

FECUENCIA CON QUE SE APAREA _____
ÚLTIMO APAREAMIENTO _____

MUESTREO No "0"

EXPLORACIÓN FÍSICA ESPECÍFICA

PENE/PREPUCIO _____
ESCROTO _____
TESTÍCULOS:
DERECHO _____ IZQUIERDO _____
EPIDÍDIMOS:
DERECHO _____ IZQUIERDO _____
PRÓSTATA _____

RECOLECCIÓN DE SEMEN

FECHA DE LA ÚLTIMA RECOLECCIÓN O APAREAMIENTO _____
LIBIDO/FACILIDAD DE RECOLECCIÓN _____
PRESENCIA DE PERRA SEÑUELO _____ ETAPA DEL CICLO _____
FEROMONA UTILIZADA _____
TÉCNICA UTILIZADA _____

VALORACIÓN DEL SEMEN

	COLOR	VOLUMEN	Ph
FRACCIÓN 1	_____	_____	_____
FRACCIÓN 2	_____	_____	_____
FRACCIÓN 3	_____	_____	_____
CONCENTRACIÓN (ESPERMATOZOIDES/ml)	_____		
No. ESPERMÁTICO TOTAL (ESPERMATOZOIDES/EYACULADO)	_____		

MOVILIDAD

MOVILIDAD TOTAL (%) _____ MOVILIDAD PROGRESIVA (%) _____
VELOCIDAD: LENTA () MODERADA () RÁPIDA ()

MORFOLOGÍA

MÉTODO (TINCIÓN) _____ CONTRASTE DE FASE _____
PORCENTAJE DE NORMALES _____ NORMALES TOTALES _____
ANOMALIAS DE LA CABEZA _____
ANOMALIAS DE LA PIEZA INTERMEDIA _____
ANOMALIAS DE LA COLA _____

MUESTRA DE SANGRE

SE REALIZÓ () **NO SE REALIZÓ ()**
OBSERVACIONES _____

***EN CASO DE QUE EXISTA ALGUNA BAJA DE CUALQUIERA DE LOS INDIVIDUOS DE ESTUDIO DURANTE EL PROCESO DE INVESTIGACIÓN, SUS DATOS SERÁN INCLUIDOS HASTA EL MOMENTO DE LA BAJA.

APÉNDICE 5

MUESTREO NO. 1

FECHA _____ **DATOS DEL PROPIETARIO**
HORA _____ **NOMBRE** _____
No. DE CASO _____ **DIRECCIÓN** _____
_____ **TELEFONO** _____
_____ **E-MAIL** _____

DATOS DEL SUJETO DE ESTUDIO

NOMBRE _____ **EXPLORACIÓN FÍSICA**
RAZA _____ **PESO** _____
EDAD _____ **CONDICIÓN CORPORAL** _____
SEXO _____ **TEMPERATURA RECTAL** _____
FECHA DE NACIMIENTO _____

EXPLORACIÓN FÍSICA ESPECÍFICA

PENE/PREPUCIO _____
ESCROTO _____
TESTÍCULOS:
DERECHO _____ **IZQUIERDO** _____
EPIDÍDIMOS:
DERECHO _____ **IZQUIERDO** _____
PRÓSTATA _____

RECOLECCIÓN DE SEMEN

FECHA DE LA ÚLTIMA RECOLECCIÓN O APAREAMIENTO _____
LIBIDO/FACILIDAD DE RECOLECCIÓN _____
PRESENCIA DE PERRA SEÑUELO _____ **ETAPA DEL CICLO** _____
FEROMONA UTILIZADA _____
TÉCNICA UTILIZADA _____

VALORACIÓN DEL SEMEN

	COLOR	VOLUMEN	Ph
FRACCIÓN 1	_____	_____	_____
FRACCIÓN 2	_____	_____	_____
FRACCIÓN 3	_____	_____	_____

CONCENTRACIÓN (ESPERMATOZOIDES/ml) _____
No. ESPERMÁTICO TOTAL (ESPERMATOZOIDES/EYACULADO) _____

MOVILIDAD

MOVILIDAD TOTAL (%) _____ **MOVILIDAD PROGRESIVA (%)** _____
VELOCIDAD: LENTA () _____ MODERADA () _____ RÁPIDA () _____

MORFOLOGÍA

MÉTODO (TINCIÓN) _____ **CONTRASTE DE FASE** _____
PORCENTAJE DE NORMALES _____ **ACROSOMAS NORMALES** _____
ANOMALIAS DE LA CABEZA _____
ANOMALIAS DE LA PIEZA INTERMEDIA _____
ANOMALIAS DE LA COLA _____

MUESTRA DE SANGRE

SE REALIZÓ ()

NO SE REALIZÓ ()

OBSERVACIONES

APÉNDICE 6

METODO DE EVALUACIÓN DE INTEGRIDAD ACROSOMAL POR MEDIO DE TRIPLE TINCIÓN (Talbot y Chacon, 1981)

- 1) Colocar en un tubo 100 μ l de semen y 100 μ l de azul tripán al 2 % en PBS, e incubar a 37 °c durante 15 min.
- 2) Fijar la muestra celular después de lavar con PBS a 1200 rpm x 3 min. Hasta que desaparezca el colorante (de 2 a 3 veces) adicionando 0.5 ml de glutaraldehído al 3% en buffer de cacodilato. Incubar 30 min. a 4 °C.
- 3) El glutaraldehído viene a una concentración del 25%, tomar 6 ml de este concentrado y agregar 44 ml de buffer de cacodilato 0.1 M, pH 7.4 .
- 4) Para preparar el buffer de cacodilato, pesar 1.07gr de ácido cacodílico (sal sodica) y disolverlo en 50 ml de agua bidestilada.
- 5) Centrifugar a 1200 rpm x 8 min.
- 6) Eliminar el sobrenadante y resuspender en 1 ml de PBS, centrifugar a 1200 rpm x 8 min.
- 7) Resuspender en PBS, preparar un frotis y dejarlo al aire hasta que seque.
- 8) Teñir el frotis con café Bismack al 8% en agua desionizada, pH 1.8 dejar secar a 37 °C durante 15 min.
- 9) Enjuagar con agua y escurrir el sobrante.
- 10) Teñir con rosa de bengala al 0.8% en buffer tris 0.1 M, pH 5.3 a temperatura ambiente por 1 min.
- 11) Para preparar el tris, pesar 0.6 gr de tris PM 121.4 en 50 ml de agua destilada.
- 12) Enjuagar y secar el frotis con agua bidestilada y valorar la integridad acrosomal.
- 13) Para la interpretación se cuantan 100 células de cada muestra en por lo menos 10 campos diferentes y se calcula el porcentaje.

APÉNDICE 7

TÉCNICAS PARA DETERMINAR EL ESTADO DEL EPITELIO SEMINIFERO INCLUSIÓN EN EPON (TEJIDO FIJADO EN KARNOVSKI)

Lavar con solución amortiguadora de cacodilatos 0.1 M y pH 7.4

Postfijación en tetroxido de osmio al 1 % durante 1 hora.

Lavar 3 veces con agua destilada, cambios de 5 minutos. Posteriormente se inicia la deshidratación con :

Un cambio de OH 60 % durante 10 minutos.

Tres cambios de OH 70% dejándolo 10 minutos en el último cambio.

Tres cambios en OH 80 % dejándolo 10 minutos en el último cambio.

Tres cambios en OH 90 % dejándolo 10 minutos en el último cambio.

Tres cambios en OH 96 % dejándolo 10 minutos en el último cambio.

Tres cambios en OH 100 % dejándolo 10 minutos en el último cambio.

Tres cambios en OH 100 % dejándolo 20 minutos en el último cambio.

Un cambio en óxido de propileno y dejándolo por 20 minutos.

IMPREGNACIÓN EN EPON

Un cambio en EPON-óxido de propileno 1:1 durante 1 hora.

Un cambio en EPON-óxido de propileno 2:1 durante 1 hora.

Cambiar a EPON puro durante 24 horas.

INCLUSIÓN

EPON puro durante 12 horas a 60 °C para su polimeración.

(Karnovski,1965).

APÉNDICE 8

NOMENCLATURA UTILIZADA

AA: Ácido araquidónico
ACTH: Hormona drenocorticotrópica
AFFCO: Association of American Feed Control Oficial
AGE: Ácidos grasos esenciales
AGI: Ácidos grasos insaturados
AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados
AGPICL: Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga
AGS: Ácidos grasos saturados
AL: Ácido linoleico
ALN: Ácido linolénico
ALL: Ácido linolénico
ANOVA: Análisis de varianza
COOH: Grupo carboxilo
CH3: Grupo metilo
DHA: Ácido docosahexaenoico
DHT: Dihydrotestosterona
DPA: Ácido docosapentaenoico
EM: Energía metabolizable
EPA: Ácido eicosapentaenoico
FSH: Hormona folículo estimulante
GNC: General Nutrition Center
GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas
IHP: Índice histopatológico
Kcal/g: Kilo calorías por gramo
Kg: Kilogramos
LH: Hormona luteinizante
LO: Enzima lipooxigenasa
LT: Leucotrienos
mg: Miligramos
ml: Mililitros
MS: Materia seca
µl: Microlitros
ENm: Energía Neta metabolizable
ng/ml: Nanogramos por mililitro
NRC: National Research Council
°C: Grados centígrados.
PBS: Solución Buffer Fosfato
Pg/ml: Picogramos por mililitro

PB: Proteína bruta
PG: Prostaglandinas
PM: Peso molecular
PV: Peso vivo
RIA: Radioinmunoanálisis
rpm: Revoluciones por minuto
SHBG: Globulina de unión a hormonas esteroides
T4: Testosterona
TBX: Tromboxanos
UI: Unidades internacionales