

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

**Evaluación de la Capacidad de Regeneración del Tejido del  
Epitelio Seminal e Integridad de la Espermatogénesis después de  
una Biopsia Testicular**

**Ignacio José Iturralde Pachano**

**Medicina Veterinaria**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario

Quito, 14 de Mayo de 2024

# **UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias de la Salud**

## **HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Evaluación de la Capacidad de Regeneración del Tejido del  
Epitelio Seminal e Integridad de la Espermatogénesis  
después de una Biopsia Testicular**

**Ignacio José Iturralde Pachano**

**Nombre del profesor, Título académico** Lenin Vinueza, DMVZ, MSc, PhD

Quito, 14 de mayo de 2024

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Ignacio José Iturralde Pachano

Código: 00201083

Cédula de identidad: 1717489619

Lugar y fecha: Quito, 14 de mayo de 2024

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el efecto de una biopsia testicular en la espermatogénesis y la recuperación del epitelio seminal en bovinos. Para este estudio, se emplearon 5 toros maduros sexualmente de raza Holstein. A cada toro se puncionó con una aguja G21 en la zona ecuatorial cerca del epidídimo del testículo derecho, quedando el testículo izquierdo como control. Luego, se realizaron orquiectomías en diferentes intervalos de tiempo para evaluar la recuperación del tejido. Las muestras de tejido fueron procesadas y analizadas histológicamente para determinar la recuperación del epitelio seminal y posibles cambios patológicos. Los resultados preliminares indican que la eficiencia de la espermatogénesis no se vio significativamente afectada por la realización de las biopsias testiculares, aunque se necesitará un análisis más detallado para comprender completamente la capacidad de regeneración del tejido testicular en diferentes momentos posteriores a la orquiectomía. Además, se encontró que la eficiencia de la espermatogénesis en la zona de la lesión después de dos meses es comparable con la del testículo que no fue sometido a la biopsia.

**Palabras clave:** Bovinos, espermatogénesis, biopsias, testículos, regeneración.

## ABSTRACT

The objective of this work is to analyze the effect of a testicular biopsy on spermatogenesis and the recovery of the seminal epithelium in bovines. For this study, 5 sexually mature Holstein bulls were selected. Each bull underwent a puncture with a #21 needle, in the equatorial area near the epididymis of the right testicle, leaving the left testicle as a control. Then, orchiectomies were performed at different time intervals to evaluate tissue recovery. The tissue samples were processed and histologically analyzed to determine the recovery of the seminal epithelium and possible pathological changes. Preliminary results indicate that the efficiency of spermatogenesis was not significantly affected by performing testicular biopsies, although more detailed analysis will be needed to fully understand the regenerative capacity of testicular tissue at different time points following orchitectomy. Furthermore, it was found that the efficiency of spermatogenesis in the lesion area after two months is comparable to that of the unbiopsied testis.

**Keywords:** Bovines, spermatogenesis, biopsies, testicles, regeneration.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>10</b>
<b>DESARROLLO DEL TEMA .....</b>	<b>12</b>
JUSTIFICACIÓN .....	12
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	12
HIPÓTESIS.....	13
OBJETIVOS .....	13
Objetivo General:.....	13
Objetivos Específicos: .....	13
METODOLOGÍA .....	14
Materiales y Métodos.....	14
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN .....	17
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>19</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Punción realizada en los testículos de los toros. ....	14
<b>Figura 2.</b> Comparación de medias de eficiencia de espermatogénesis entre los cuatro bovinos utilizados en el estudio anterior. ....	16

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Fotografías del estudio .....	22
---	----

## INTRODUCCIÓN

La reacción antígeno-anticuerpo es la base de la respuesta inmunitaria específica. En este proceso, los anticuerpos se unen a moléculas específicas llamadas antígenos. Esta interacción es crucial para identificar y neutralizar patógenos como virus, bacterias, parásitos y hongos, así como para detectar y eliminar células cancerosas y responder a tejidos trasplantados. La especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo se basa en la estructura tridimensional única del anticuerpo y del antígeno. Los anticuerpos, producidos por los linfocitos B, después de la activación por el antígeno, tienen regiones variables que se adaptan específicamente a una estructura particular del antígeno (Yang et al., 2014). Esta unión desencadena una serie de eventos que pueden resultar en la eliminación del antígeno mediante fagocitosis y lisis celular a través del complemento o la neutralización de toxinas (Clínica Universidad de Navarra, 2023).

Existen casos donde el sistema inmunitario ataca a las células sanas por error. Por ejemplo, la inmunoinfertilidad por ruptura de la barrera hematotesticular ocurre cuando se producen anticuerpos contra los espermatozoides, lo que puede generar problemas de fertilidad. Esta barrera está formada por uniones estrechas de las células de Sertoli y evita que el sistema inmunológico del animal genere anticuerpos contra los espermatozoides (Krause & Naz, 2009). Específicamente, evita el ingreso de sangre a los túbulos seminíferos.

Los túbulos seminíferos son una parte esencial del testículo, encargados de la producción y maduración de las células espermáticas. Su estructura está conformada por células mioideas que rodean la membrana basal del túbulo y poseen filamentos contráctiles. En el interior de los túbulos se encuentran las células germinales, responsables del desarrollo del espermatogonio hasta el espermatozoide maduro, junto con las células de Sertoli (Universidad Complutense de Madrid, 2014). Sin embargo, si esta barrera se rompe debido a cambios

mecánicos, infecciosos, inflamatorios o degenerativos, los antígenos de los espermatozoides quedan expuestos al sistema inmunológico desencadenando una reacción antiinflamatoria y la formación de anticuerpos contra las células germinales, lo que podría afectar la fertilidad (Gupta et al., 2023).

La infertilidad puede tener un impacto significativo en la productividad del ganado bovino. Como se ha señalado previamente, este problema de infertilidad puede surgir debido a la presencia de anticuerpos anti-espermatozoides, los cuales se forman cuando la barrera hematotesticular se ve comprometida (Ferrer et al., 2015). Es crucial tener en cuenta que la barrera hematotesticular es una estructura impermeable que separa el compartimento sanguíneo intersticial de los túbulos seminíferos. Su función primordial es prevenir reacciones autoinmunes al limitar el paso de sustancias hacia el epitelio seminífero. Esta función asegura que el entorno donde se desarrollan los espermatozoides se encuentre protegido contra posibles ataques del sistema inmunológico (Restrepo & Cardona, 2013).

En México, se observa una práctica común en la que se realizan laceraciones en los testículos de caballos con el propósito de inducir esterilidad sin la necesidad de remover los testículos. Esta práctica, arraigada en una mentalidad culturalmente machista, tiene como objetivo mantener intactos los testículos y evitar la capacidad reproductiva de los caballos. En comparación con la técnica de orquiectomía, también conocida como castración, donde los testículos se retiran por completo del cuerpo (Mendina, 2008). Por otro lado, en Brasil, se llevan a cabo prácticas donde se extraen muestras de espermatozoides de sementales bovinos mediante el uso de jeringas para evaluar su fertilidad. A diferencia de los caballos de México, los toros brasileños no quedan estériles después de este procedimiento. Este hecho resulta sorprendente, ya que la punción también debería provocar una respuesta autoinmune en los toros. Este fenómeno sirve como punto de partida para esta investigación, con el objetivo de determinar el grado necesario de daño en el testículo para inducir la esterilidad.

## **DESARROLLO DEL TEMA**

### **JUSTIFICACIÓN**

Considerando que en países como Brasil donde se aplica la punción testicular con el fin de sacar muestras para evaluar la fertilidad de sementales y la practicas realizadas en México para inducir la esterilidad, el presente estudio pretende evaluar el período de tiempo requerido para la recuperación del tejido testicular. También se pretende examinar el potencial del daño infligido a las células germinales como resultado del ingreso de sangre al epitelio seminífero. Se postula que la interrupción de la barrera hematotesticular podría facilitar la penetración de la sangre en los túbulos seminíferos, lo cual desencadenaría una respuesta inmune caracterizada por una reacción antígeno-anticuerpo dirigida hacia las células germinales. Este fenómeno, a su vez, podría resultar en la esterilización del toro en cuestión. Por ende, se llevará a cabo un análisis exhaustivo de los efectos tanto a corto como a largo plazo de la lesión en la barrera hematotesticular, con el propósito de contribuir y entender los mecanismos de regeneración testicular y los potenciales riesgos asociados con la alteración de esta barrera protectora. Para orientar a la investigación de una forma más efectiva, se plantearon dos preguntas de investigación y dos hipótesis.

### **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

- ¿La realización de una punción en el epitelio testicular del bovino podría tener repercusiones en su fertilidad?
- ¿Cuál es el período de recuperación del epitelio testicular tras sufrir una lesión mediante punción?

## HIPÓTESIS

- La punción con una aguja de calibre G21 en el epitelio testicular puede causar daño en las células germinales, potencialmente conduciendo a la esterilidad debido a una respuesta antígeno-anticuerpo.
- Tras realizar la punción testicular con una aguja de calibre G21, el epitelio testicular será capaz de recuperarse completamente en un lapso de dos meses.

## OBJETIVOS

- **Objetivo general:** Analizar el efecto de punción testicular sobre el desarrollo de la espermatogénesis y recuperación del epitelio seminal.
- **Objetivos específicos:**
  - Identificar la cantidad de daño testicular causada por punción con aguja calibre G21.
  - Evaluar la recuperación del epitelio testicular en distintos intervalos de tiempos tras la punción mediante observaciones realizadas cada 15 días.
  - Examinar si la lesión causada por la punción genera cambios en el proceso de espermatogénesis.
  - Confirmar el tiempo necesario para que el tejido testicular pueda reparar las lesiones generadas

## METODOLOGÍA

### MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio, se seleccionaron 5 toros de raza Holstein en edad sexualmente madura. Los criterios de exclusión consideraron la presencia de anomalías testiculares como el criptorquidismo y/o lesiones, así como la falta de madurez sexual después del primer año de vida. Posteriormente, a cada toro se realizó una punción con una aguja G21 en la zona ecuatorial cerca del epidídimo del testículo derecho, mientras que el testículo izquierdo se utilizó como control. El mismo día de la punción (día 0), se realizó una orquiectomía al primer individuo (Toro 1) con el fin de identificar histológicamente el sitio de lesión. En el día 15, se procedió con la misma técnica quirúrgica a dos animales (Toros 2 y 3) con el fin de evaluar el grado de recuperación testicular. Finalmente, al día 60 se llevó a cabo la orquiectomía en los 2 últimos individuos (Toros 4 y 5) (Ver Figura 1).



*Fuente: Ignacio Iturralde*

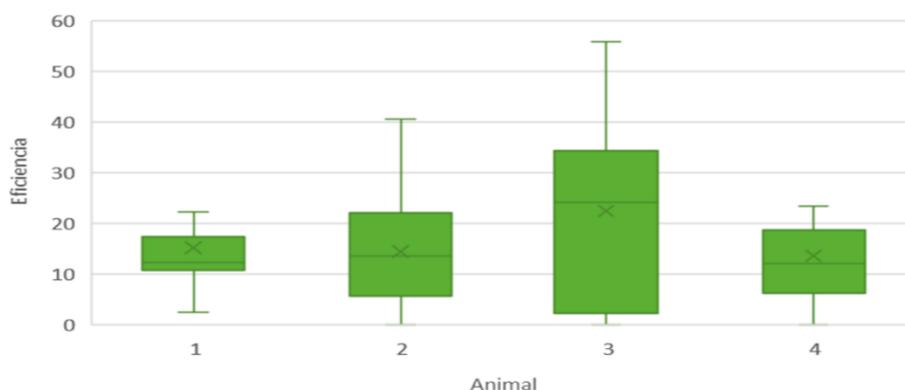
**Figura 1.** Punción realizada en los testículos de los toros.

*Nota: Castración realizada en el día 60 posterior a la punción donde la flecha señala sitio de punción realizada en el testículo derecho y se compara con el testículo izquierdo usado como control.*

Cabe destacar que tras cada procedimiento quirúrgico, los testículos fueron trasladados al laboratorio donde se realizaron cortes histológicos con micrótopo y, a su vez, se extrajeron muestras de su parénquima. Los cortes se fijaron con paraformaldehído al 4% V/V por 24 horas y fueron almacenados en etanol al 70% a 4 °C hasta su análisis histológico y evaluación de la recuperación del epitelio seminal.

## RESULTADOS

Las muestras del presente estudio se encuentran siendo examinadas actualmente y se espera realizar el análisis histológico en el corto plazo. No obstante, según los resultados de un estudio previo realizado por Miño (2022) la representación gráfica (Ver Figura 2) muestra que los animales 1, 2 y 4 de ese estudio muestran promedios de eficiencia similares, presentando valores de  $15.18 \pm \text{SEM}$ ,  $14.37 \pm \text{SEM}$  y  $13.58 \pm \text{SEM}$  respectivamente. Por otro lado, el animal 3 exhibe una eficiencia superior, alcanzando un valor de  $22.38 \pm \text{SEM}$ .



*Fuente: Miño, 2022.*

**Figura 2.** Comparación de medias de eficiencia de espermatogénesis entre los cuatro bovinos utilizados en el estudio anterior.

*Nota: En este gráfico de cajas y bigotes se ilustra la variación en la eficiencia de la espermatogénesis entre los cuatro animales, medida en millones de células por gramo de tejido testicular. Se observan promedios similares para los animales (NS).*

Sin embargo, al no encontrar diferencias significativas estadísticamente a través de un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% para contrastar los promedios de eficiencia entre los cuatro individuos. Considerando las cuatro variables, se obtuvo un valor de ( $P > 0.05$ )

## DISCUSIÓN

Los resultados de Miño (2022) sugieren que la realización de biopsias testiculares no afecta significativamente la eficiencia de la espermatogénesis en puntos distantes al sitio de la punción dentro del testículo. En consecuencia, se puede inferir que la espermatogénesis de los toros en el presente estudio no se vio afectada. Sin embargo, se requiere el análisis de las muestras histológicas para determinar la capacidad de regeneración testicular en el sitio de la lesión en diferentes tiempos (día 0, 15 y 30) y comprobar la eficiencia de la espermatogénesis en la zona de la lesión al cabo de dos meses. Cabe destacar que se ha desaconsejado la realización de biopsias en toros debido al potencial de causar áreas focales de necrosis testicular y reacciones autoinmunes. Sin embargo, se han realizado biopsias con aguja en hombres y en animales domésticos, incluidos toros, con buenos resultados diagnósticos y con poco efecto permanente sobre la fertilidad.

En primer lugar, Lopate et al., (1989), realizaron un estudio de biopsias testiculares en perros. Los perros fueron castrados entre 1 y 36 días después de la biopsia y sus testículos fueron examinados histológicamente. Las lesiones testiculares incluyeron hipoespermatogénesis, necrosis por coagulación, degeneración tubular, fibrosis intersticial e inflamación. Además, observaron escasez de túbulos intactos en las secciones. Sin embargo, incluso con la falta de túbulos y tejido conectivo considerable en las muestras, se podría hacer una evaluación precisa de proliferación y maduración del epitelio germinal. Por tanto, dichos resultados demostraron que la biopsia testicular es un procedimiento seguro en perros para la evaluación de problemas de fertilidad. Asimismo, la biopsia testicular se recomienda en hombres infértiles para la evaluación completa del caso (Meinhard et al., 1973).

A su vez, según el estudio de Lunstra & Echterkamp (1988), las biopsias repetitivas de carneros jóvenes a intervalos de 4 semanas no causaron efectos histológicos perjudiciales

en el testículo. Los cambios histológicos asociados con el procedimiento de biopsia incluyeron vacuolización, hipoplasia tubular generalizada, fibrosis generalizada y aparición de células granulares multinucleadas en la luz de los túbulos seminíferos.

Finalmente, Heath et al., (2002), en un estudio de 6 toros maduros mestizos realizó una biopsia de un testículo seleccionado al azar de cada toro con un instrumento de biopsia con aguja de calibre 14. Luego, los toros fueron evaluados durante un período de 90 días para detectar cambios en la temperatura escrotal y los patrones térmicos, la apariencia ecográfica y la calidad de los espermatozoides. Al final del estudio de 90 días, los toros fueron castrados y los testículos fueron examinados macroscópicamente e histológicamente. Sus resultados demostraron cambios en las temperaturas escrotales, los patrones térmicos y en los resultados del examen de aptitud reproductiva durante las primeras 2 semanas del estudio. Sin embargo, no hubo cambios a largo plazo en la calidad del semen durante el transcurso del experimento. En el examen ecográfico se detectaron áreas hiperecoicas, probablemente causadas por fibrosis, que correspondían a las áreas de penetración del instrumento de biopsia. Además, no se encontraron lesiones microscópicas que indicaran disfunción testicular. Por lo tanto, si bien se generó un proceso inflamatorio por la función, no se desencadenó una respuesta autoinmune que conllevó a la infertilidad de las cabras de dicho estudio.

Por lo tanto, aunque las muestras de este estudio aún están en proceso de análisis, según lo mencionado anteriormente, es posible refutar la hipótesis de que la punción con una aguja de calibre G21 en el epitelio testicular pueda causar daño en las células germinales, lo que potencialmente conduciría a la esterilidad debido a una respuesta antígeno-anticuerpo. Sin embargo, se aguardan los resultados de laboratorio para confirmar si la recuperación del epitelio seminal requiere 2 meses.

## CONCLUSIONES

Como se ha mencionado anteriormente, las muestras de este estudio se encuentran actualmente en proceso de análisis. Sin embargo, al contrastar los hallazgos con los resultados del estudio previo (Miño, 2022), se puede deducir que la biopsia testicular constituye un método eficaz para evaluar la funcionalidad reproductiva de los toros. Se concluye que la extracción de muestras de espermatogénesis mediante punción provoca una laceración en el testículo, sin embargo, no genera una respuesta autoinmune que ocasionaría el daño de las células germinales tras el contacto con la sangre. Además, surge la interrogante sobre si la realización de una biopsia de forma más agresiva, como emplear una aguja de mayor diámetro o ejecutar una punción con mayor fuerza genere una lesión más profunda que podría modificar los resultados y ocasionar un impacto en la espermatogénesis. Por consiguiente, una vez completado el análisis de las muestras de este estudio, se espera demostrar que la recuperación del epitelio seminal se haya completado en su totalidad en un período de 60 días y que no haya surgido repercusiones en el desarrollo de la espermatogénesis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clínica Universidad de Navarra. (2023). *Diccionario Médico*. Reacción antígeno-anticuerpo.  
<https://www.cun.es/>
- Ferrer, M. S., Laflin, S., Anderson, D. E., Miesner, M. D., Wilkerson, M. J., George, A., Miller, L. M. J., Larson, R., & Garcia Flores, E. O. (2015). Prevalence of bovine sperm-bound antisperm antibodies and their association with semen quality. *Theriogenology*, *84*(1), 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.02.017>
- Gupta, V. K., Mohanty, T. K., Bhakat, M., Dewry, R. K., Katiyar, R., Nain, D., Shah, N., Sethi, M., Rautela, R., Singh, M., & Deori, S. (2023). Bovine reproductive immunoinfertility: Pathogenesis and immunotherapy. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1248604>
- Heath, A. M., Carson, R. L., Purohit, R. C., Sartin, E. M., Wenzel, J. G. W., & Wolfe, D. F. (2002). Effects of testicular biopsy in clinically normal bulls. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *220*(4), 507-512.  
<https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.507>
- Krause, K., & Naz, R. (2009). *Immune infertility: Impact of immune reactions on human fertility*. Springer International Publishing.  
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-01379-9>
- Lopate, C., Threlfall, W. R., & Rosol, T. J. (1989). Histopathologic and gross effects of testicular biopsy in the dog. *Theriogenology*, *32*(4), 585-602.  
[https://doi.org/10.1016/0093-691x\(89\)90280-x](https://doi.org/10.1016/0093-691x(89)90280-x)
- Lunstra, D. D., & Echtenkamp, S. E. (1988). Repetitive testicular biopsy in the ram during pubertal development. *Theriogenology*, *29*(4), 803-810. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(88\)90217-8](https://doi.org/10.1016/0093-691x(88)90217-8)

- Meinhard, E., McRae, C. U., & Chisholm, G. D. (1973). Testicular Biopsy in Evaluation of Male Infertility. *British Medical Journal*, 3(5880), 577-581.
- Mendina, R. (2008). *Atlas de Tecnicas Quirurgicas en bovino*. Trillas.
- Miño, 2022. (2022). *Evaluación de Daño a Distancia Producto de Biopsias Testiculares en Bovinos (Bos taurus)*. Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias Biológicas Ambientales.
- Restrepo, B., & Cardona, M. (2013). *Anticuerpos antiespermatozoides y su asociación con la fertilidad*. 37(9), 571-578.
- Universidad Complutense de Madrid. (2014). *El testículo: La estructura histológica*.  
<https://www.ucm.es/gradovet/el-testiculo>
- Yang, G., Velgos, S. N., Boddapati, S. P., & Sierks, M. R. (2014). Probing Antibody-Antigen Interactions. *Microbiology Spectrum*, 2(1), AID-0010-2013.  
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AID-0010-2013>

## ANEXOS

### Anexo 1. Fotografías del estudio

