



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



**DESCRIPCIÓN DE LA CITOLOGÍA VAGINAL DE LA DINÁMICA
FOLICULAR EN LLAMAS EN RELACIÓN A CARACTERÍSTICAS
ULTRASONOGRÁFICAS Y ESTRÓGENOS**

TESIS

PRESENTADA POR:

ELVIS MAMANI APFATA

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PUNO – PERÚ

2022



DEDICATORIA

*A mis Padres Elias y Gumerinda; Hnos. Gladys, Royer, Deysi, por su infinito Ejemplo, Fortaleza, Comprensión, Responsabilidad y Apoyo incondicional a quienes debo mi formación profesional, **Misión cumplida...***



AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional del Altiplano Puno, Alma Mater.
- A todos los docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por transmitir sus conocimientos y experiencias e inculcaron mi formación profesional.
- Mi especial reconocimiento y gratitud al M.Sc. Uri Harold Pérez Guerra, por su apoyo y asesoramiento durante la ejecución de tesis.
- Mi especial reconocimiento al M.Sc. Valeriano Z. Maquera Maron, M.Sc. José Iván Quiñones García Dr. Sc. Nubia Lilia Catacora Flores por sus consejos, apoyo incondicional y orientaciones en la dirección de la presente tesis.
- Al Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Nacional del Altiplano, por las facilidades brindadas en la ejecución de la tesis.
- A mis amigos(as), por sus alientos a seguir adelante a pesar de las dificultades.
- A mis amigos(as) y compañeros(as) de estudio, con quienes compartimos momentos gratos.



INDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

INDICE GENERAL

INDICE DE GRÁFICOS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE ACRONIMOS

RESUMEN 9

ABSTRACT..... 10

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION..... 12

1.1.1. Objetivo general..... 12

1.1.2. Objetivos específicos 12

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES..... 14

2.2. MARCO TEÓRICO..... 15

2.2.1. Dinámica folicular en camélidos 15

2.2.2. Ultrasonografía reproductiva en camélidos 18

2.2.3. Citología vaginal..... 19

2.2.4. Evaluación hormonal de estradiol..... 21

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO..... 22

3.2. ANIMALES 22



3.3. METODOLOGÍA	22
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES.....	32
VI. RECOMENDACIONES.....	33
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
ANEXOS.....	40

ÁREA: Reproducción Animal.

TEMA: Citología vaginal en relación a ultrasonografía y estrógenos.

FECHA DE SUSTENTACION: 11 de agosto de 2022



INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Gráfico de barras de la citología vaginal (% de tipos hormonales) en relación a las etapas de la dinámica folicular en llamas.....	28
Gráfico 2.	Concentración de 17β estradiol evaluada durante la dinámica folicular en llamas.....	30



INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Relación porcentual de tipos celulares (Parabasales, Intermedias y Superficiales) durante la dinámica folicular en llamas	27
-----------------	---	----



INDICE DE ACRONIMOS

INEI	Instituto Nacional de Estadística e Informática
MINAGRI	Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
ELISA	Enzimoimmunoanálisis de adsorción
CE	Ciclo Estral
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
LH	Hormona luteinizante
FSH	Hormona foliculoestimulante
IA	Inseminación Artificial
TE	Transferencia de Embriones
SENAMHI	Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú
mm	milímetros
MHz	Megahercio
μl	microlitro



RESUMEN

El objetivo del estudio fue describir la relación entre la citología vaginal y concentración de estrógenos con las fases crecimiento, dominancia y regresión folicular. El estudio fue realizado en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, localizado en el distrito de Puno, provincia de Puno del departamento de Puno, se utilizaron 10 llamas hembras de edades entre 6 a 8 años; las evaluaciones consistieron en monitorear la dinámica folicular mediante ultrasonografía, determinar con concentraciones hormonales de 17β estradiol mediante ELISA y relacionar con la citología exfoliativa determinando los porcentajes de células parabasales, intermedias y superficiales evaluadas con la técnica de Diff - Quikk® mediante microscopía. Se determinó que no existió relación entre los tipos celulares en las diferentes etapas de dinámica folicular (selección, crecimiento y regresión $p=0.7995$); sin embargo, las células superficiales tuvieron un comportamiento marcado presentando durante la selección folicular 38.79%, crecimiento folicular 44.11% y regresión folicular 34.46%; finalmente al relacionar las concentraciones hormonales de 17β estradiol con las fases de dinámica folicular se observa un grado de asociación negativa con un coeficiente de Pearson de -0.55 ($p=0.0496$) indicando una relación inversa. En conclusión, las células que podrían determinar la etapa de dinámica folicular son las superficiales, mientras que no se encontró relación directa entre la concentración de 17β estradiol y los diferentes tipos celulares (parabasales, intermedias y superficiales).

Palabras clave: Citología exfoliativa, dinámica folicular, estrógenos, llama, ultrasonografía



ABSTRACT

The objective of the study was to describe the relationship between vaginal cytology and estrogen concentration with follicular growth, dominance and regression phases. The study was carried out in the laboratory of Animal Reproduction of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry of the Universidad Nacional del Altiplano - Puno, located in the district of Puno, province of Puno, department of Puno, using 10 female llamas aged 6 to 8 years; The evaluations consisted of monitoring the follicular dynamics through ultrasonography, determining with hormonal concentrations of 17β estradiol through ELISA and relating with the exfoliative cytology by determining the percentages of parabasal, intermediate and superficial cells evaluated with the Diff - Quikk® technique through microscopy. It was determined that there was no relationship between the cell types in the different stages of follicular dynamics (selection, growth and regression $p=0.7995$); however, the superficial cells had a marked behavior presenting during follicular selection 38.79%, follicular growth 44.11% and follicular regression 34.46%; finally when relating the hormonal concentrations of 17β estradiol with the stages of follicular dynamics a negative degree of association is observed with a Pearson's coefficient of -0.55 ($p=0.0496$) indicating an inverse relationship. In conclusion, the cells that could determine the stage of follicular dynamics are the superficial cells, while no direct relationship was found between the concentration of 17β estradiol and the different cell types (parabasal, intermediate and superficial).

Keywords: Exfoliative cytology, follicular dynamics, estrogens, llama, ultrasonography



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La población mundial de llamas estimada llega los 3.321 millones de unidades en el año 1996, siendo Bolivia el principal productor con el 60.88%, seguido del Perú con 32.52%, Argentina con 4.05% y en menores cantidades Chile y Ecuador. Actualmente, Perú cuenta con 1,09 millones de unidades, de las cuales el 33.92% se encuentra en el departamento de Puno (INEI, 2012; MINAGRI, 2013). La llama, constituye un medio de subsistencia de un vasto sector de la población de las zonas altoandinas del Perú, a través del aporte de carne, energía de trabajo y otros subproductos debido a los atributos morfológicos y productivos de esta especie fueron dejados de lado en nuestro país, sin embargo en poblaciones de otras latitudes se ha estimado que presentan potencial de producción de fibra (Hick et al., 2009) y carne (Cristofanelli et al., 2004). La totalidad de las llamas se encuentra en manos de pequeños productores de muy escasos recursos que no poseen las condiciones adecuadas para el desarrollo tecnológico en alimentación, manejo, producción y reproducción de esta especie por lo cual se avizoran elevadas oportunidades de mejoramiento genético (FAO, 2005).

La producción animal esta sostenida por varios ítems de importancia como son: sanidad, alimentación, manejo, mejoramiento genético y reproducción; este último juega un rol importante desde el punto de vista de eficiencia que se complica en camélidos debido a la alta tasa de reabsorción embrionaria debido a varios factores que aún no está esclarecidos (Bravo P., 2002; San-Martin *et al.*, 1968). El estudio de la dinámica folicular en camélidos ha dilucidado que el comportamiento es mediante ondas foliculares sobrepuestas y continuas con un funcionamiento ovárico alternado en la mayoría de las ondas (Cavilla et al., 2013; Perez G. et al., 2021), determinando también un relación



directa con la concentración de estradiol a medida que aumenta el diámetro del folículo dominante (Bravo, PW *et al.*, 1990) todas estas pruebas requieren de equipamiento especial como son de ultrasonografía y equipos de ELISA que podrían estar relacionadas con pruebas diagnósticas de fácil evaluación como la citología exfoliativa muy utilizada en otras especies como cabras y principalmente en caninos (Ali *et al.*, 2020; Balazero, 2019).

El estudio de citología exfoliativa está bastante estudiada en caninos, este estudio permite determinar o aproximar la fase en la que se encuentra la hembra para realizar el servicio o monta natural, observando determinado tipo celular según sea el caso o estado del ciclo estral (Balazero, 2019), esta información podría ser utilizada en otras especies como los camélidos sudamericanos donde existe limitada información en algunos reportes indican por ejemplo en camélidos donde evalúan los porcentajes en alpacas vacías y preñadas de forma general (Pacheco, 2017; Pacheco *et al.*, 2016); sin embargo, se puede indicar que no existe una evaluación específica de la citología exfoliativa durante la onda folicular en camélidos por tal motivo se propuso los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.1.1. Objetivo general

Describir la relación entre la citología vaginal y concentración de estrógenos con las fases crecimiento, dominancia y regresión folicular.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar los porcentajes de citología exfoliativa durante las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular en llamas.



- Evaluar la concentración de estrógenos durante las fases de selección, y regresión folicular en llamas.
- Correlacionar la citología vaginal y concentración de estrógenos con las fases foliculares en llamas.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

El estudio de la dinámica folicular en camélidos se caracteriza al igual que en otras especies por poseer el fenómeno de ondas foliculares constantes tal como ocurre en vacunos, ovinos, equinos entre otros (Ginther et al., 2003). Sin embargo toda especie tiene sus propias características y a pesar de que en camélidos se identificó las diversas fases como son de crecimiento, dominancia y regresión folicular tanto en alpacas, llamas, vicuñas y guanacos (Bravo, PW *et al.*, 1990; Cancino *et al.*, 2011; Hanco et al., 2015; Miragaya et al., 2004; Perez G. *et al.*, 2021; Riveros et al., 2010; Vaughan, 2011), también se pudo identificar la codominancia así como sucede en camellos además de definir con bastante seguridad que las ondas foliculares son sobrepuestas entre sí evaluadas y reportadas específicamente en llamas (Cavilla et al., 2013; B. M. Manjunatha et al., 2014); estos hallazgos serian lo más actuales sobre la dinámica folicular en camélidos.

La relación con las concentraciones hormonales principalmente con la 17β estradiol indican que existe una relación directa con el desarrollo del folículo dominante estos hallazgos también son reportados por varios autores (Bertuzzi *et al.*, 2020; Bravo, PW; *et al.*, 1990); en tal sentido se demuestra la teoría que indica que las células de granulosa y teca interna se caracterizan por sintetizar hormonas sexuales en este caso particular del 17β estradiol, esta teoría es conocida como la de “dos células dos hormonas” tal como mencionan varios autores en estudios generales de fisiología y endocrinología de la reproducción (Galina, C; *et al.*, 2002).



Finalmente la citología vaginal posee limitada información en camélidos existiendo dos estudios importantes en alpacas vacías y preñadas (Pacheco, 2017; Pacheco et al., 2016); observando claramente el incremento de las células superficiales en hembras vacías en comparación de hembras preñadas. También en especies cercanas como son los camellos reportan porcentajes entre 28 y 33% de células superficiales en hembras sin historia de empadre (Majama et al., 2018). En tal sentido es importante los estudios sobre estos temas relacionados a las fases de dinámica folicular en camélidos.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Dinámica folicular en camélidos

El desarrollo folicular es una sucesión dinámica de eventos organizados bajo control hormonal, que se lleva a cabo en ondas foliculares. La cual es definida como el desarrollo armónico y simultáneo de varios folículos de 4 a 5 mm de diámetro, pasando por diversas fases de reclutación, selección y dominancia, por parte del folículo dominante (FD) y la consecuente regresión de los folículos subordinados (Quispe, A; *et al.*, 2013).

La actividad cíclica del ovario se da al inicio de la pubertad y el hipotálamo desempeña un papel fundamental para controlar la transición hacia la madurez sexual, ya que las neuronas del área pre-óptica, al madurar son menos sensibles al efecto inhibitor de los bajos niveles de estradiol segregados por los folículos. Como resultado es producida por el hipotálamo, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) la cual estimula la secreción de las hormonas gonadotrópicas (FSH y LH) de la glándula pituitaria. Los elevados niveles de la hormona folículo estimulante (FSH) en sangre



inducen al desenvolvimiento de los folículos y en sinergismo la LH, estimula a su maduración. A medida que el folículo pre-ovulatorio se desenvuelve aumenta la producción de estradiol por los folículos y después una determinada concentración de estradiol estimula la manifestación del estro (Williams et al., 2007).

2.2.1.1. Fases del desarrollo de la dinámica folicular en vacas.

Reclutamiento; durante el ciclo estral (CE) un grupo de 3 a 6 folículos (de 2 a 5 mm.) comienzan a desarrollarse a partir de una cohorte de folículos antrales pequeños que comienzan a madurar bajo un aporte adecuado de Gonadotropinas, especialmente por un pico transitorio de FSH, que le permiten avanzar en su desarrollo. Los niveles circulantes de FSH antes del reclutamiento de un grupo de folículos aumentan transitoriamente y esto se caracteriza por la expresión de mRNA que codifica para la elaboración de las aromatasas P450arom y P450scc en las células foliculares (Palma, 2008).

El desarrollo folicular desencadena el inicio de la primera onda de crecimiento folicular, estimulada por el segundo pico de FSH el cual ocurre posterior a la ovulación. Existe un claro patrón durante el crecimiento de la primera onda folicular; los folículos exitosos responden al incremento transitorio de FSH aumentando su crecimiento y la síntesis de estradiol, así como una elevación en la producción de inhibinas de alto peso molecular y activina, mientras que la folistatina y el dimero de inhibina de bajo peso molecular se mantienen en bajas concentraciones. A pesar de esto los dos mayores competidores por la dominancia no se pueden distinguir hasta después de ocurrida la selección (Liu et al., 2007; Roche *et al.*, 2018).



Selección; en vacunos tiene una duración de 2, 3 y 4 del ciclo estral, se detectan por medio de ultrasonografía uno o varios folículos (provenientes de la etapa de reclutamiento) de un tamaño promedio de 6 a 9 mm., con lo cual la fase selección comienza a ejercerse (Ginther *et al.*, 2003).. A medida que los folículos maduran, comienzan a depender de la LH, lo cual puede ser parte del mecanismo de selección del folículo dominante (Roche *et al.*, 2018). Los cambios en el patrón de expresión del mRNA para los receptores de la gonadotropinas y enzimas esteroidales dentro de las células foliculares, parecen estar muy ligados a las modificaciones en las concentraciones sanguíneas de gonadotropinas (Rubianes, 2000). La selección se relaciona con la interferencia del folículo más grande sobre la capacidad de los folículos más pequeños de recibir un adecuado soporte gonadotrópico. Esto podría ser llevado a cabo mediante dos vías. La vía pasiva por la cual el folículo mayor inhibe indirectamente el crecimiento de los folículos menos maduros reduciendo las concentraciones de FSH por debajo del umbral necesario para mantener a los otros folículos. En la vía activa, el folículo mayor inhibe directamente el crecimiento de los demás folículos secretando en la sangre sustancias que reducen su sensibilidad a la FSH (Bergfelt *et al.*, 2003).

Dominancia; la fase de dominancia, es el proceso por el cual el folículo seleccionado ejerce un efecto inhibitorio sobre el reclutamiento de una nueva cohorte de folículos. Para el establecimiento de esta dominancia se requiere que se presente divergencia o desviación, que corresponde al tiempo en el cual el folículo dominante y el (los) subordinado (s) más desarrollado (s) crecen a una tasa diferente, antes de que el subordinado manifieste atresia (Kulick *et al.*, 2001). El folículo dominante alcanza un tamaño marcadamente superior a los demás (diámetro mayor a 10 mm) y es responsable de la secreción de estradiol. Esta actividad estrogenica está relacionada con el incremento



en la expresión de genes para aromatasas (P450 arom y P450 17 – α hidroxilasa), 3 β -hidroxi-esteroide deshidrogenasa (3 β HSD) y receptor de FSH, así como la adquisición de receptores para LH en las células de la granulosa (Ginther, 2014).

Atresia; la gran mayoría de los folículos presentes al nacimiento degeneran a través del proceso conocido como atresia (clausura u obliteración de un orificio o conducto del cuerpo), la cual ha sido descrita para diversas especies mamíferas (Huanca et al., 2001). La fase de atresia, consiste en la desaparición de los folículos que no son seleccionados como dominantes, o del folículo dominante el cual no llega a ser ovulatorio (cuando la lisis del cuerpo lúteo no coincide con la dominancia folicular) (Gigli et al., 2006). Se debe aclarar que la atresia se presenta en cualquier estadio del desarrollo folicular, aunque es más frecuente en folículos antrales y su incidencia está directamente relacionada con el tamaño de los folículos; los más grandes presentan un índice proliferativo mayor, que hace a sus células más susceptibles a la muerte por apoptosis y por lo tanto a la atresia (Rodríguez P., 2017).

2.2.2. Ultrasonografía reproductiva en camélidos

El manejo reproductivo eficiente y el uso de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial (IA) y transferencia de embriones (TE) requiere de una comprensión completa sobre la dinámica folicular y los factores que afecta la actividad ovárica en camélidos. Los primero estudios se remontan a los años 90 sobre el comportamiento ovárico y hormonal (Bravo et al., 1990); la necesidad de la caracterización de las ondas foliculares son para desarrollar la IA y TE en camélidos, la herramienta de primer orden se da mediante el uso de la ultrasonografía tras la observación de la actividad folicular y sus características más importantes como la



dinámica, ovulación y monitores de respuesta a tratamientos de sincronización de onda y efecto de las hormonas multiovuladoras (Tibary, 2017).

La *dinámica folicular* en ausencia de ovulación en todos los camélidos se caracteriza por tener ondas foliculares constantes y sobrepuestas entre ellas, los camélidos se caracterizan por tener ovulación inducida estimulada mediante el empadre e inducción hormonal. La mayoría de los autores reportan tres fases de la dinámica folicular que son el reclutamiento, crecimiento, maduración y regresión la duración de las fases de la onda folicular son variables de ahí reportan en llamas en la fases de crecimiento, maduración y regresión datos de 3 a 9 días, 2 a 8 días y 3 a 8 días respectivamente (Bravo et al., 1990; Cavilla et al., 2013; Chaves et al., 2002).

Los *factores que afectan la dinámica folicular*; tenemos principalmente la pubertad, época del año, posparto, lactación y nutrición; estudios sobre la pubertad son limitados solo existen reportes sobre el inicio de la actividad folicular en alpacas donde reportan los 4 meses y en llamas los 6 meses (Tibary, 2017); la reactivación ovárica posparto ocurre 5 días posparto alcanzando tasas aceptables 2 a 3 semanas de ocurrido el parto; la lactación en llamas fue demostrado que disminuye el diámetro del diámetro del folículo dominante y el efecto de la nutrición fue demostrado en llamas con restricción alimenticia mostro un supresión folicular, menor desarrollo del cuerpo lúteo (CL) por tanto baja concentración de progesterona (Bravo et al., 1995; Tibary, 2017).

2.2.3. Citología vaginal

Es una técnica con un alto valor diagnóstico en otras especies domésticas diferentes a los camélidos que permite determinar el momento del ciclo estral, además



sirve para el diagnóstico de desórdenes genitourinarios, evaluación de células exfoliadas de extendidos vaginales que son simples y económicas (Balazero, 2019). En camélidos el uso de la citología es principalmente para distinguir endometritis agudas de crónicas; las endometritis crónicas se caracterizan por una predominante población de neutrófilos con pocos linfocitos y células plasmáticas. Mientras que las endometritis crónicas existe mayor cantidad de linfocitos con una proporción variables de células plasmáticas, macrófagos, eosinófilos y mastocitos (Krimer & Miller, 2021). Posterior al frotis y coloración de la mucosa vaginal se distingue diferentes tipos celulares que provienen de la capa vaginal más profunda hacia el lumen que son: parabasales, intermedias, metaestrales y superficiales.

Durante el *anestro* se observa un predominio de células parabasales y en menor medida células intermedias pequeñas desde el punto de vista inmunológico se pueden encontrar escasos neutrófilos y bacterias de la flora normal. El examen durante el *proestro* muestra gran cantidad de eritrocitos (en especies como en perras), células intermedias grandes y pequeñas y aun escasa cantidad de células superficiales hacia el final de esta etapa se observa incremento de neutrófilos y predominio de células intermedias y superficiales. Durante el *estro* principalmente se observan las células superficiales y anucleares que deben constituir más del 80% de células contabilizadas, normalmente un frotis en esta etapa no contiene neutrófilos además de una disminución drástica de eritrocitos, escasas bacterias todo ello descrito principalmente en perras donde la citología vaginal es una prueba diagnóstica importante (Henao *et al.*, 2010).



2.2.4. Evaluación hormonal de estradiol

La medición de Estradiol en suero o plasma está considerada ser la forma más confiable de determinar su rango de producción. El *17 β estradiol* es una hormona esteroidea (peso molecular de 272.3 daltons) la cual circula predominantemente atada a una proteína. En adición para el estradiol, otros estrógenos esteroideos naturales incluyen la estrona, estriol y otros metabolitos; las gonadotropinas de la pituitaria regulan la secreción de las hormonas ováricas (ESE Hafez, 2002).

El kit de ELISA usa un anticuerpo anti – estradiol específico y no requiere una extracción de muestra previa de suero o plasma. La reactividad cruzada de otros ocurre naturalmente y su relación estructural de esteroides es bajo; durante la incubación el estradiol en la muestra agregada compite con el conjugado enzimático agregado, que es una molécula de estradiol conjugado con una peroxidasa para unirse al anticuerpo recubierto.

La **concentración de Estradiol** evaluado en **ondas foliculares sucesivas** estableciendo que el crecimiento de un nuevo folículo induce el incremento de las concentraciones de Estradiol estableciendo un patrón cíclico con un promedio de 10.9 pmol/l; siendo el diámetro folicular registrado de 4.7 mm en relación a la concentración basal de Estradiol (Cavilla et al., 2013); estudios anteriores reportan una correlación positiva entre el tamaño folicular y concentración de estrógenos (Bravo et al., 1990).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

La investigación se realizó en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, localizado en el distrito de Puno, provincia de Puno del departamento de Puno, a 3840 m s. n. m., latitud sur 15° 49' 20" y longitud 70° 01' 07", entre los meses de abril a agosto del 2021, con una precipitación promedio anual de 700 mm, con una temperatura máxima de 20°C y temperatura mínima de hasta -16°C y una humedad relativa promedio de 65% (SENAMHI, 2020).

3.2. ANIMALES

Se trabajó con 10 llamas hembras de edades entre 6 a 8 años, estos fueron criados bajo similares condiciones, con relación al manejo alimenticio (a base de trébol blanco y césped común), albergadas en las instalaciones de animales mayores del Hospital Veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; las cuales fueron sometidas a los exámenes que posteriormente serán detallados.

3.3. METODOLOGÍA

- **Preparación de los animales**

La sujeción se realizó atando a las llamas tanto de miembros anteriores como posteriores, sujetando en posición decúbito ventral; mientras que la preparación de las llamas consistió en realizar el lavado de la zona perineal y órganos genitales externos con agua y jabón carbólico, antes de colocar el transductor endocavitario transvaginal además



de la limpieza descrita se desinfectó con solución de gluconato de clorhexidina 2%. A continuación, se insertó la mano enguantada debidamente lubricada a manera de palpación rectal para eliminar la mayor cantidad de heces y facilitar la evaluación ultrasonográfica (Hanco, *et al.*, 2015).

- **Evaluación ultrasonográfica**

- Se realizó mediante examen transvaginal simultáneamente en ambos ovarios en dos planos diferentes para cada animal en diariamente por los periodos que dure el proceso de la dinámica folicular.
- Se utilizó un ecógrafo Sonostar SS8® equipado con un transductor microconvexo endocavitario para el examen transvaginal programado a 6.5 MHz.
- Las imágenes se analizarán en modo 4B posteriormente fueron almacenados en un USB para ser evaluados en una computadora y registradas en planillas preparadas para las evaluaciones (Berland *et al.*, 2011; Cancino *et al.*, 2011; Hanco *et al.*, 2015; Parraguez, VH; *et al.*, 2010).

- **Características morfométricas (reclutamiento folicular)**

Las características morfométricas que fueron evaluadas según recomendación de diversos autores (Bravo *et al.*, 1990; Cavilla *et al.*, 2013; Hanco *et al.*, 2015) para el reclutamiento folicular será:

Nº de folículos/cohorte, se contabilizó al momento que existía en uno de los ovarios, folículos menores con tamaños de entre 2 a 3 mm considerado como el día 0 o inicio de la onda folicular en cada animal; evaluando diariamente hasta el término del



reclutamiento, según lo recomendado los folículos son visualizados como estructuras anecogénicas (imagen negra) debido a que las ondas de ultrasonido no retornan al transductor debido a que el líquido folicular posee esa característica (Duggavathi et al., 2003)

Tasa de crecimiento, se evaluó en mm/día resultó de la diferencia de los diámetros foliculares alcanzados al terminar del reclutamiento folicular menos los diámetros iniciales dividido entre los días que duró este proceso, realizando las evaluaciones a diario (Duggavathi *et al.*, 2003), como se mencionó anteriormente identificando a los folículos como estructuras anecoicas que al transcurrir el tiempo aumentarían su tamaño; la determinación de esta característica se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de crecimiento } \left(\frac{\text{mm}}{\text{día}}\right) = \frac{\text{Diámetros finales de reclutamiento} - \text{Diámetros iniciales del reclutamiento}}{\text{Nº de días de duración del acontecimiento}}$$

- **Citología vaginal mediante la técnica Diff – Quick**

La toma de muestras se realizó en condiciones de higiene y limpieza utilizando guantes y limpiando previamente los labios vulvares de las hembras. Seguidamente se colocó hisopo estéril hacia la zona dorsal y aproximadamente al tercio medio de la vagina.

Una vez realizada los movimientos circulares se colocó sobre la lámina portaobjetos que inmediatamente fue sumergida a la **solución fijadora** durante un minuto.

Seguidamente fue introducido a la **tinción 1** durante un minuto lo mismo para la **segunda tinción**, finalmente se procedió a lavar el portaobjetos con agua destilada suavemente y se dejó secar hasta su evaluación en un microscopio de contraste de fase Leica ICC50® a (400x).



- **Toma de muestras y determinación de concentración hormonal**

Se realizó la colección de sangre, mediante venopunción yugular, previa asepsia, utilizando tubos de VACUTAINER de 9 ml, previamente rotulados para cada animal, la cantidad de sangre extraída es de 3 ml aproximadamente. Las muestras después de colectarse fueron centrifugadas para la extracción del suero sanguíneo a 5000 rpm por 5 minutos, posteriormente fueron almacenadas en congelamiento -20°C para su conservación, estas muestras luego se enviaron al laboratorio para la determinación de los niveles de Estradiol para lo cual se utilizará dos kits, que fueron evaluadas con un equipo de ELISA (Organon Teknica, microwell system, modelo Reader 230S), tal como se describe a continuación:

- Se añadió 198 μl de solución diluyente en cada micro pocillo, seguidamente se colocó los sueros controles y los sueros procesados en cada uno de los pozos de la placa de microtitulación, excepto en el pozo del blanco.
- Se llevo a incubación por 1 horas a 38°C , seguidamente se retiró la placa y se procedió al lavado correspondiente con solución de lavado por 4 veces con 250 μl y se secó por inversión sobre papel toalla.
- Se añadió a cada micropocillo 100 μl de Anti - 17β estradiol y se cubrió la placa con papel Parafilm®, seguidamente se incubó a $38^{\circ}\text{C}/1$ hora para que a continuación se realizó el lavado tal como se describió anteriormente.
- Se agrego 100 μl de solución sustrato y se incubó a temperatura de ambiente por espacio de 20 minutos a continuación se detuvo la reacción agregando 25 μl de solución STOP en cada micropocillo y se realizó la lectura.



3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico Jamovi 1.6.23.0 (R Core Team, 2021). Para el determinar la dependencia entre los tipos celulares en las diferentes etapas de la dinámica folicular se utilizó la prueba de Chi cuadrado mientras que para determinar el grado de asociación entre el diámetro folicular y la concentración de 17β estradiol previamente se evaluó los supuestos de normalidad y homocedasticidad, posteriormente al cumplir esos supuestos se utilizó la correlación de Pearson para medir el grado de asociación entre estas dos variables antes mencionadas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Relación porcentual de tipos celulares (Parabasales, Intermedias y Superficiales) durante la dinámica folicular en llamas

	Tipo celular		
	Parabasales	Intermedias	Superficiales
	(%)	(%)	(%)
Selección	22.20	43.76	38.79
Crecimiento	22.44	44.59	44.11
Regresión	16.95	47.64	34.46

p=0.7995

Se observa que los porcentajes de células parabasales fue de 22.2%, Intermedias de 22.44 y 16.95% durante la fase de selección folicular; mientras que las células intermedias poseen un comportamiento para la selección, crecimiento y regresión folicular de 43.76%, 44.59% y 47.64% respectivamente; finalmente para las células superficiales los porcentajes fueron de 38.79% durante la fase de selección, 44.11% durante el crecimiento folicular y 34.46% para la fase de regresión. Al ser evaluada mediante la prueba de Chi cuadrado para revisar si existe alguna relación entre los diferentes porcentajes celulares y las fases de la dinámica folicular y observando a una significancia de $p=0.7995$ se puede indicar que no existe dicha relación en tal sentido es indistinto el comportamiento de la citología vaginal durante el proceso de dinámica folicular desde el punto de vista estadístico. El porcentaje de células parabasales son similares a lo reportado en camellos durante la fase folicular quienes reportan 25.6%, mientras que dicho reporte muestra un menor porcentaje de células superficiales (25.4%) en comparación al presente estudio (Majama et al., 2018). Estos hallazgos son corroborados por otros autores quienes mencionan que en camellos no podría utilizarse

para la determinación y evaluación durante la fase folicular y fase luteal tal como ocurre en el presente estudio (Majama et al., 2018); este comportamiento irregular de las células parabasales e intermedias se debe probablemente a que estas se manifiestan con mayor precisión en presencia de la progesterona es decir cuando existe un cuerpo lúteo, en tal sentido los camélidos se caracterizan por tener una onda folicular continua y sobrepuesta u overlapping (mencionan en inglés) por tanto no se observa la presencia de cuerpo lúteo durante la evaluación de la citología vaginal (Cavilla *et al.*, 2013; Hafez, 2002; Perez G. *et al.*, 2021); en otras especies como los caninos la evaluación porcentual de la células parabasales e intermedias están altamente relacionadas con durante la fase de diestro y anestro (Balazero, 2019) fases que no se presentan durante la onda folicular en camélidos; sin embargo, se reportan porcentajes importante en alpacas preñadas, las cuales poseen un cuerpo lúteo para el mantenimiento de la preñez (Pacheco *et al.*, 2016).

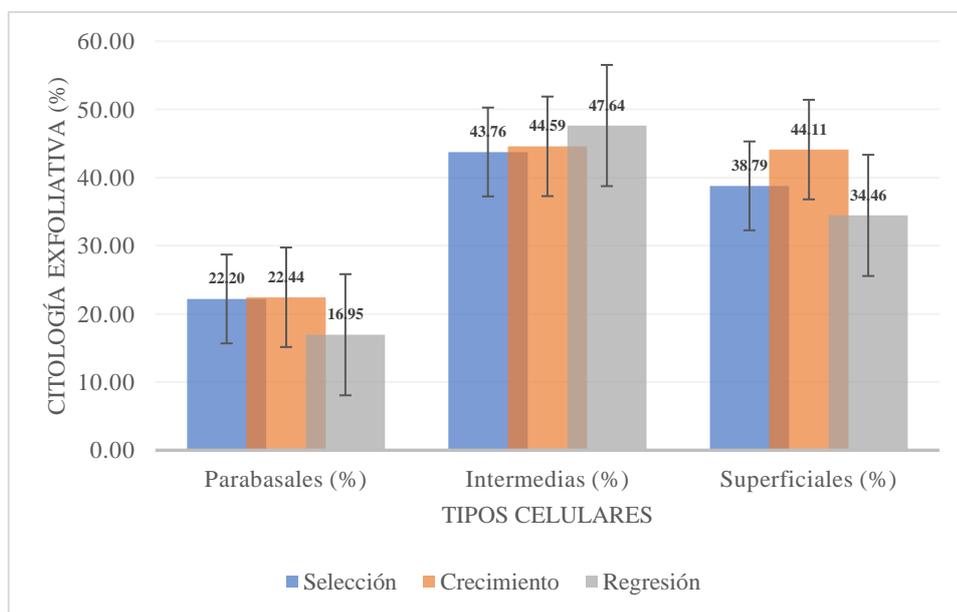


Gráfico 1. Caracterización de los tipos celulares de barras de la citología vaginal (% de tipos celulares) en relación a las etapas de la dinámica folicular en llamas.

El gráfico de barras muestra un comportamiento poco variable para la células parabasales que fue de 22.2% para la Selección folicular, 22.44% para la fase de



crecimiento folicular y 16.95% durante la regresión folicular no se observa un cambio porcentual marcado; del mismo modo para las células intermedias de 43.76, 44.59 y 47.64% durante las fases de selección, crecimiento y regresión respectivamente; finalmente para los porcentajes de las células superficiales se puede notar cambios importantes durante las fases de selección folicular con 38.79%, crecimiento folicular con 44.11% y regresión folicular con 34.46%, observando una relación importante del porcentaje de este tipo celular a lo largo de la duración de las fases de dinámica folicular (selección, crecimiento y regresión) en llamas. Los datos obtenidos en proporción es similar a los reportado por Pacheco (2017) quien reporta en alpacas vacías un mayor porcentaje de células superficiales (66.9%), intermedias (22.3%) y parabasales (4.9%) observando una superioridad para células superficiales, tal como se observa en el presente estudio en todas las fases de la dinámica folicular. Sin embargo, el porcentaje de células superficiales del presente estudio (38 y 44%) son superiores al comparar con alpacas preñadas con 3 y 4 meses de preñez quienes reportan 30.67% y 27.8% respectivamente (Pacheco et al., 2016). El tipo celular que tuvo un comportamiento más relacionado a las fases de dinámica folicular fueron las células superficiales observando 38.79% durante la fase de selección, 44.11% para la fase de crecimiento y 34.46% para la fase de regresión observando un mayor porcentaje durante la fase de crecimiento durante la dominancia estrogénica (Pacheco, 2017) debido a que los niveles de estrógenos incrementan a medida que aumenta el diámetro folicular este fenómeno está muy relacionado con la exfoliación celular que es un proceso que se caracteriza por una necrosis celular (células superficiales) en dicho proceso las células vaginales redondas mueren y aumentan de tamaño se tornan de forma irregular y poseen una tinción pálida; además, sus núcleos progresivamente disminuyen de tamaño y se hacen picnóticos todos estos procesos dependientes de los niveles hormonales de los estrógenos que al mismo tiempo incrementan la actividad de

la pared uterina que causa hipersecreción de la células epiteliales del útero y vagina resultando en un aumento de células superficiales (Balazero, 2019; Siregar et al., 2016).

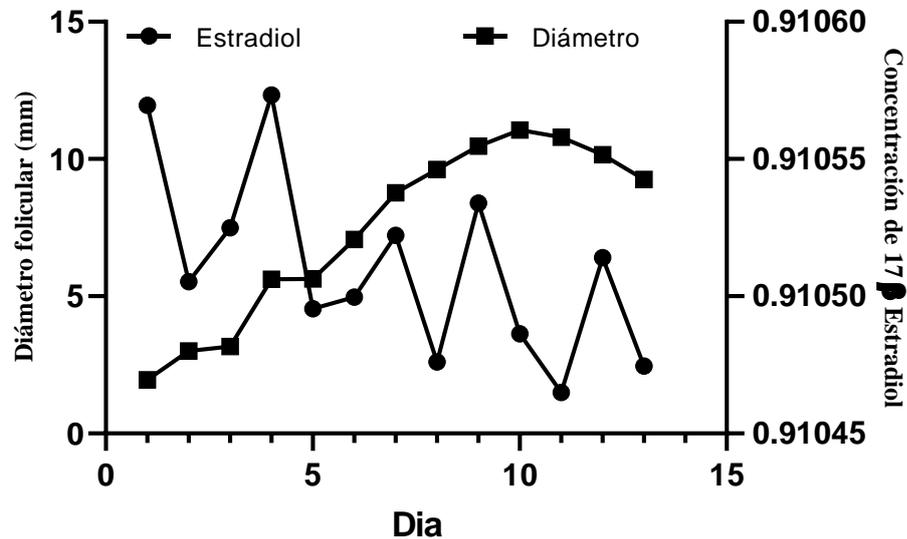


Gráfico 2. Relación entre la concentración de 17β estradiol evaluada durante la dinámica folicular en llamas.

El gráfico no muestra una relación directa entre el diámetro folicular (mm) y la concentración del 17β estradiol. Primero indicar que el crecimiento folicular fue determinado a manera de ondas foliculares con etapas definidas como son: selección, crecimiento y regresión; mientras que la concentración hormonal tuvo picos altos y bajos durante todas estas etapas, dicho comportamiento es comprobado mediante el coeficiente de Pearson que fue de -0.55 ($p=0.0496$) que evidencia una relación media negativa entre la concentración hormonal y el diámetro folicular (durante la dinámica folicular en llamas). Este comportamiento es debido probablemente a que los camélidos tienen características propias como son la sobreposición de ondas foliculares y la codominancia (Cavilla *et al.*, 2013; B. M. Manjunatha et al., 2012; Perez G. *et al.*, 2021), características



que podrían estar afectando la concentración del 17β estradiol, debido a que en el primer caso existe el crecimiento simultáneo de otro folículo dominante o en caso de la codominancia existe dos folículos dominantes que podrían variar significativamente la concentración del 17β estradiol. Estos resultados son diferentes a lo reportado por otros autores quienes confirman una relación directa entre el desarrollo folicular y la concentración hormonal del estradiol (Bravo, PW; *et al.*, 1990). Otros autores indican textualmente que las concentraciones tanto de estrógenos como progesterona en camellos durante la onda folicular tienen una alta variabilidad individual (Ahmed, LA; *et al.*, 2016) no teniendo un comportamiento homogéneo como ocurre en vacunos (Ginther *et al.*, 1989); se puede observar si un incremento de 17β estradiol al término del reclutamiento folicular e inicios de la selección y desviación folicular dichos procesos son completamente dependientes de la hormona FSH que al mismo tiempo tiene relación directa con la 17β estradiol; ambos procesos (selección y desviación folicular) de suma importancia antes de la dominancia folicular que aún no están estudiadas en camélidos sudamericanos, aunque existe reportes en camellos (Espinoza-Villavicencio *et al.*, 2007; Ginther *et al.*, 2003; B. Manjunatha *et al.*, 2014)



V. CONCLUSIONES

- Las células superficiales son las que tuvieron un comportamiento más relacionado con las fases de selección, crecimiento y selección folicular siendo sus porcentajes de 38.79, 44.11 y 34.46% respectivamente.
- La concentración de 17β estradiol tuvo un incremento durante el inicio de la fase de crecimiento posterior a ello muestra un comportamiento irregular (aumento y disminución) de la concentración en relación a las fases de la dinámica folicular en llamas.
- No hubo evidencias de una relación directa entre la concentración de 17β estradiol y las fases de selección, crecimiento y regresión folicular, en tal sentido para este estudio particular no sería un buen indicador para determinar la dinámica folicular en llamas; por tanto, tampoco existe una relación importante entre la citología vaginal y concentración hormonal.



VI. RECOMENDACIONES

- Utilizar como alternativa la citología vaginal específicamente los porcentajes de células superficiales para identificar las fases de selección, crecimiento y regresión folicular.
- Realizar mayor cantidad de estudios con otras hormonas sexuales que permitan identificar una relación directa con las diferentes etapas de dinámica folicular en camélidos.
- El monitoreo ultrasonográfico de la dinámica folicular es una técnica más eficiente en comparación a la concentración hormonal para la identificación de fases de dinámica folicular en llamas.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, LA; Mustafa, U. (2016). Assessment of estrogen and progesterone level in the dromedary camels after ovulation induction during non-breeding season. *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences*, 17(December), 29–35.
- Ali, M. A., Islam, M. F., Rahman, S. M. L., & Zohara, B. F. (2020). Pregnancy diagnosis in goat by using vaginal cytology and trans-abdominal ultrasonography. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 35(4), 338–346. <https://doi.org/10.12750/jarb.35.4.338>
- Balazero, C. (2019). Relación de la citología vaginal con el ciclo estral de la perra doméstica (*Canis familiaris*). In *Universidad Privada Antenor Orrego*. <https://doi.org/10.1056/nejm197406132902412>
- Bergfelt, D. R., Segó, L. H., Beg, M. A., & Ginther, O. J. (2003). Calculated follicle deviation using segmented regression for modeling diameter differences in cattle. *Theriogenology*, 59(8), 1811–1825. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01229-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01229-3)
- Berland, M. A., Baer, A. Von, Ruiz, J., Parraguez, V. H., Morales, P., & Adams, G. P. (2011). In vitro fertilization and development of cumulus oocytes complexes collected by ultrasound-guided follicle aspiration in superstimulated llamas. *Theriogenology*, 75(8), 1482–1488. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.047>
- Bertuzzi, M. L., Fumuso, F. G., Giuliano, S. M., Miragaya, M. H., Gallelli, M. F., & Carretero, M. I. (2020). New protocol to separate llama sperm without enzymatic treatment using Androcoll-E™. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(9), 1154–1162. <https://doi.org/10.1111/rda.13755>
- Bravo, P; Lasley, B; Fowler, M. (1995). Resumption of ovaian follicular activity and uterine involution in the postpartum llama. *Theriogenology*, 44, 783–791.
- Bravo, PW; Fowler, ME; Stabenfeldt, GH; Lasley, B. (1990). Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biology of Reproduction*, 43, 579–585.
- Bravo P., W. M. (2002). *The Reproductive Process Of South American Camelids*. Seagull



Printing.

- Cancino, AK; Aller, JF; Rebuffi, G; Alberio, R. (2011). Control de la dinámica folicular ovárica en llamas (*Lama glama*) en posparto temprano. *Archivos de Zootecnia*, 60(232), 1009–1020.
- Cavilla, M. V, Bianchi, C. P., Maistruarena, C., & Aba, M. A. (2013). *Ultrasonographic and Endocrine Characterization of Follicular Waves in Llamas with a Special Reference to the Overlapping Phenomenon During Successive Waves*. 930, 923–930. <https://doi.org/10.1111/rda.12187>
- Chaves, M. ., Aba, M., Agüero, A., Egey, J., Berestin, V., & Rutter, B. (2002). Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Science*, 69(1–2), 37–46. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00173-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00173-7)
- Cristofanelli, S., Antonini, M., Torres, D., Polidori, P., & Renieri, C. (2004). Meat and carcass quality from Peruvian llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*). *Meat Science*, 66(3), 589–593. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(03\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(03)00174-8)
- Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., & Rawlings, N. C. (2003). Use of high-resolution transrectal ultrasonography to assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. *Theriogenology*, 60(3), 495–510. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00041-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00041-4)
- Espinoza-Villavicencio, J. L., Pérez, R. O., Espinosa, A. P., Méndez, J. V., & Flores, C. F. A. (2007). Crecimiento folicular ovárico en animales domésticos: Una revisión. *Interciencia*, 32(2), 93–99.
- FAO. (2005). Situación actual de los samélicos sudamericanos en Perú. *Fao*, 1–429. https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n1.41413
- Galina, C; Valencia, J. (2004). *Reproducción de animales domésticos* (Limusa (ed.); Tercera).
- Gigli, I., Russo, A., & Agüero, A. (2006). Consideraciones sobre la dinámica ovárica en equino, bovino y camélidos sudamericanos. *InVet*, 8(1), 183–203.
- Ginther, O. J. (2014). How ultrasound technologies have expanded and revolutionized



- research in reproduction in large animals. *Theriogenology*, 81(1), 112–125.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>
- Ginther, O. J., Beg, M. A., Donadeu, F. X., & Bergfelt, D. R. (2003). Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. *Animal Reproduction Science*, 78(3–4), 239–257. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00093-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00093-9)
- Ginther, O. J., Kastelic, J. P., & Knopf, L. (1989). *Composition and Characteristics of Follicular Waves during the Bovine Estrous Cycle*. 20, 187–200.
- Hafez, E., & Yhafezb, E. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. (7 edición. (ed.); McGraw-Hil).
- Hafez, ESE. (2002). *Reproducción e Inseminación articial en animales* (McGrawHill (ed.); Sétima Edi).
- Hanco, EG; LLacsa, J; Quispe, YM; Pérez MG, Luque, N; Perez, U. (2015). Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (Vicugna pacos). *Spermova*, 5(1), 51–54. <https://doi.org/10.18548/aspe/0002.11>
- Hanco, EG; LLacsa, J; Quispe, YM; Pérez, MG; Luque, N; Perez, U. (2015). Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (Vicugna pacos). *SPERMOVA*, 5(1), 51–54. <https://doi.org/10.18548/aspe/0002.11>
- Henao, G. (2010). *Algunos factores relacionados con la dinámica folicular en bos indicus*. 63(2), 1. <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a11v63n01.pdf>
- Hick, M. V. H., Lamas, H. E., Echenique, J., Prieto, A., Castillo, M. F., & Frank, E. N. (2009). Estudio demográfico de los atributos morfológicos y productivos en poblaciones de llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina. *Animal Genetic Resources Information*, 45(September), 71–78. <https://doi.org/10.1017/S1014233909990368>
- Huanca, W., Cárdenas, O., Olazábal, C., Ratto, M., & Adams, G. (2001). Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. *Rev. Investing. Vet. Perú*, 1, 462–463.
- INEI. (2012). IV Censo Nacional Agropecuario. *Resultados Definitivos. IV Censo Nacional Agropecuario*, 62. <http://proyectos.inei.gob.pe/web/DocumentosPublicos/ResultadosFinalesIVCEN>



AGRO.pdf

- Krimer, P. M., & Miller, D. M. (2021). *Uterine Cytology - ample Collection Normal Cytology and Histology*. 559–581.
- Kulick, L. J., Bergfelt, D. R., Kot, K., & Ginther, O. J. (2001). Follicle selection in cattle: Follicle deviation and codominance within sequential waves. *Biology of Reproduction*, 65(3), 839–846. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.3.839>
- Liu, X., Dai, Q., & Rawlings, N. C. (2007). Ultrasonographic Image Attributes Of Non-Ovulatory Follicles and Follicles With Different Luteal Outcomes In Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)-Treated Anestrous Ewes. *Theriogenology*., 67(235), 957–969.
- Majama, Y. B., Mshelia, G. D., Ahmed, Y., Abba, Y., & Kwari, H. D. (2018). Exfoliative cytology of the uterus and vagina during the follicular and luteal phases in one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 16(3), 33. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v16i3.5>
- Manjunatha, B., Al-Bulushi, S., & Pratap, N. (2014). Ultrasonographic Characterization of Follicle Deviation in Follicular Waves with Single Dominant and Codominant Follicles in Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*). *Reproduction in Domestic Animals*, 49(2), 239–242. <https://doi.org/10.1111/rda.12260>
- Manjunatha, B. M., Al-Bulushi, S., & Pratap, N. (2014). UltrasoNographic Characterization Of Follicle Deviation In Follicular Waves With Single Dominant And Codominant Follicles In Dromedary Camels (*Camelus dromedarius*). *Reproduction in Domestic Animals*, 49(2), 239–242. <https://doi.org/10.1111/rda.12260>
- Manjunatha, B. M., Pratap, N., Al-bulushi, S., & Hago, B. E. (2012). Characterization of ovarian follicular dynamics in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Theriogenology*, 78(5), 965–973. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.05.011>
- MINAGRI. (2013). *Iv Censo Nacional*. 47. <https://www.agrorural.gob.pe/dmdocuments/resultados.pdf>
- Miragaya, M. H., Aba, M. A., Capdevielle, E. F., Ferrer, M. S., Chaves, M. G., Rutter,



- B., & Agüero, A. (2004). Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology*, *61*(4), 663–671. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00238-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00238-3)
- Pacheco, J. (2017). Caracterización de la Citología Exfoliativa Vaginal en Alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *28*(4), 886–893. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13876>
- Pacheco, J., Wenceslao, H., & Calsin, D. (2016). Descripción de la citología vaginal en alpacas gestantes. *Spermova*, *4*(1), 102–104.
- Palma, G. (2008). Evaluación morfológica de los embriones bovinos. In Reprobiotec (Ed.), *Biotechnología de la Reproducción* (Segunda, pp. 237–247).
- Parraguez, VH; Adams, G; Ratto, M; Raggi, L. (2010). Camelids. In B. Publishing (Ed.), *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*.
- Perez G., U., Pari P., D., Gutierrez Y., F., Málaga A., J., Luque M., N., Rojas E., R., & Pérez D., M. (2021). Comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en ondas sucesivas de llamas (*Lama glama*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, *32*(1), e19504. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19504>
- Quispe, A; Quispe, Y; Perez, U, Luque, N. P. M. (2013). Estudio ultrasonográfico de la dinámica folicular en vacas Brown Swiss en el Altiplano Peruano. *Spermova*, *3*(1), 2013.
- Riveros, J. L., Schuler, G., Bonacic, C., Hoffmann, B., Chaves, M. G., & Urquieta, B. (2010). Ovarian follicular dynamics and hormonal secretory profiles in guanacos (*Lama guanicoe*). *Animal Reproduction Science*, *119*, 63–67. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.11.005>
- Roche, J. F., Mihm, M., Diskin, M. G., & Ireland, J. J. (2018). A Review of Regulation of Follicle Growth in Cattle '. *February*, 16–29.
- Rodríguez Pérsico, J. M. (2017). *Efecto De La Prolongación Del Proestro En Protocolos De IATF sobre La Dinámica Ovárica y La Fertilidad En Vaquillonas (Bos Taurus)* [Universidad Nacional de Córdoba]. [https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/5976/Rodríguez Pérsico%2C J. M.](https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/5976/Rodríguez_Pérsico%2C_J._M.)



Efecto de la prolongación del proestro...pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Rubianes, E. (2000). Avances en el conocimiento de la fisiología ovárica de los pequeños rumiantes y su aplicación para el manejo reproductivo. *Actas de Fisiología*, 6, 93–103.
- San-Martin, M., Copaira, M., Zuniga, J., Rodreguez, R., Bustinza, G., & Acosta, L. (1968). Aspects of reproduction in the alpaca. *Journal of Reproduction and Fertility*, 16(3), 395–399. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0160395>
- SENAMHI. (2020). *Servicio Nacional de Meteorología e Hidrográfica. Estación Experimental. Puno, Ayaviri, Perú*. 2013.
- Siregar, T. N., Melia, J., Rohaya, Thasmi, C. N., Masyitha, D., Wahyuni, S., Rosa, J., Nurhafni, Panjaitan, B., & Herrialfian. (2016). Determining Proportion of Exfoliative Vaginal Cell during Various Stages of Estrus Cycle Using Vaginal Cytology Techniques in Aceh Cattle. *Veterinary Medicine International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3976125>
- Tibary, A. (2017). Theriogenology Monitoring and controlling follicular activity in camelids. *Theriogenology*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.011>
- Vaughan, J. (2011). Ovarian function in South American camelids (alpacas , llamas , vicunas , guanacos) &. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.031>
- Williams, E. J., Fischer, D. P., Noakes, D. E., England, G. C. W., & Rycroft, A. (2007). *The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow*. 68, 549–559. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.056>



ANEXOS

Anexos de materiales utilizados

Sustancias y reactivos

- Agua bidestilada
- Glicerol
- Gel ecográfico
- Colorante Diff-Quik®
- Alcohol 70°
- Vaselina sólida, Portugal®

Equipos y materiales de laboratorio

- Microscopio óptico
- Probeta graduada, 100 ml
- Tubos de ensayo, 4 ml
- Cámara de flujo laminar
- Refrigeradora
- Termo de colección
- Gradillas
- Equipo de ELISA
- Equipo ultrasonográfico

Materiales propiamente dichos

- Jeringas, 10 mL; 5 mL; 3 mL y 1 mL
- Torundas de algodón
- Papel toalla
- Laminas portaobjetos
- Papel platino
- Hisopos

Anexos de los datos

Porcentajes de tipos celulares en las evaluaciones

ETAPA	Parabasales	Intermedios	Superficiales	Tipo	Diámetro	Ovario	Onda	ID
S	7.1	48.2	44.6	II	3.85	D	I	I
S	5.7	79.2	15.1	II	5.025	D	I	I
C	3.4	20.7	75.9	II	6.675	D	I	I
C		38.5	61.5	II	7.325	D	I	I
C	6.3	71.9	21.9	II	7.225	D	I	I
C		98.5	1.5	II	7.625	D	I	I
C		95.8	4.2	II	8.075	D	I	I
R		38.2	9.2	II	6.425	D	I	I
R	4.9	36.1	59.0	II	6.675	D	I	I
R	1.5	85.3	13.2	II	4.075	D	I	I
R	4.7	44.2	51.2	II	3.35	D	I	I
C	0.0	50.0	50.0	II	10.25	I	II	I
C	0.0	50.8	49.2	II	9.175	I	II	I
R	2.8	44.4	52.8	II	10.225	I	II	I
R	0.0	36.1	63.9	II	8.35	I	II	I
R	0.0	40.5	59.5	II	8.425	I	II	I
S	15.4	44.2	40.4	I	3.35	D	I	II
S	13.0	79.6	7.4	I	4.05	D	I	II
C	12.5	77.1	10.4	I	7.7	D	I	II
C		5.8	94.2	I	9.85	D	I	II
C	54.2	25.0	20.8	I	10.85	D	I	II
C		100.0	0.0	I	13.9	D	I	II
C		92.0	8.0	I	14.8	D	I	II
R	22.0	47.5	30.5	I	13.45	D	I	II
R	1.7	37.3	61.0	I	13.95	D	I	II
R	52.5	30.5	16.9	I	8.35	D	I	II
R	3.5	17.5	78.9	I	6.15	D	I	II
C	37.0	45.7	17.3	I	5.15	D	I	II
C	6.0	37.3	56.7	I	7.65	I	II	II
C	5.1	30.8	64.1	I	8.75	I	II	II
C	60.5	19.8	19.8	I	10.2	I	II	II
R	85.4	1.2	13.4	I	9.7	I	II	II
S	0.00	70.00	30.00	II	2.9	I	I	III
S	0.00	26.79	73.21	II	6.5	I	I	III
C	0.00	14.00	86.00	II	8.7	I	I	III
C	0.00	24.56	75.44	II	10.4	I	I	III
C	63.93	34.43	1.64	II	12.7	I	I	III
R	63.93	34.43	1.64	II	11.2	I	I	III
R	0.00	88.89	11.11	II	13.2	I	I	III



R	11.63	51.16	37.21	II	12.8	I	I	III
R		69.23	30.77	II	13.5	I	I	III
C	48.39	22.58	29.03	I	7.4	I	II	III
C	29.85	61.19	8.96	I	9.4	I	II	III
C	0.00	18.97	81.03	I	9.7	I	II	III
C	12.68	46.48	40.85	I	10.65	I	II	III
R	13.89	66.67	19.44	I	10.15	I	II	III
R	36.11	63.89	0.00	I	10.5	I	II	III
R	17.44	72.09	10.47	I	8.45	I	II	III

Concentración hormonal y diámetro folicular

estradiol	diámetro
0.91056954	1.96
0.91050537	3
0.91052488	3.17
0.91057329	5.62
0.91049539	5.63
0.91049973	7.07
0.91052213	8.77
0.91047603	9.62
0.91053398	10.47
0.91048629	11.05
0.9104649	10.79
0.91051404	10.16
0.91047458	9.26

Anexos estadísticos

Pearson's Chi-squared test

data: .Table

X-squared = 1.6517, df = 4, p-value = 0.7995

> .Test\$expected # Expected Counts

columns

rows Parabasales Intermedias Superficiales

Selección 20.48502 45.23069 39.03429

Crecimiento 21.73466 47.98987 41.41548

Regresión 19.37032 42.76945 36.91023



> remove(.Test)

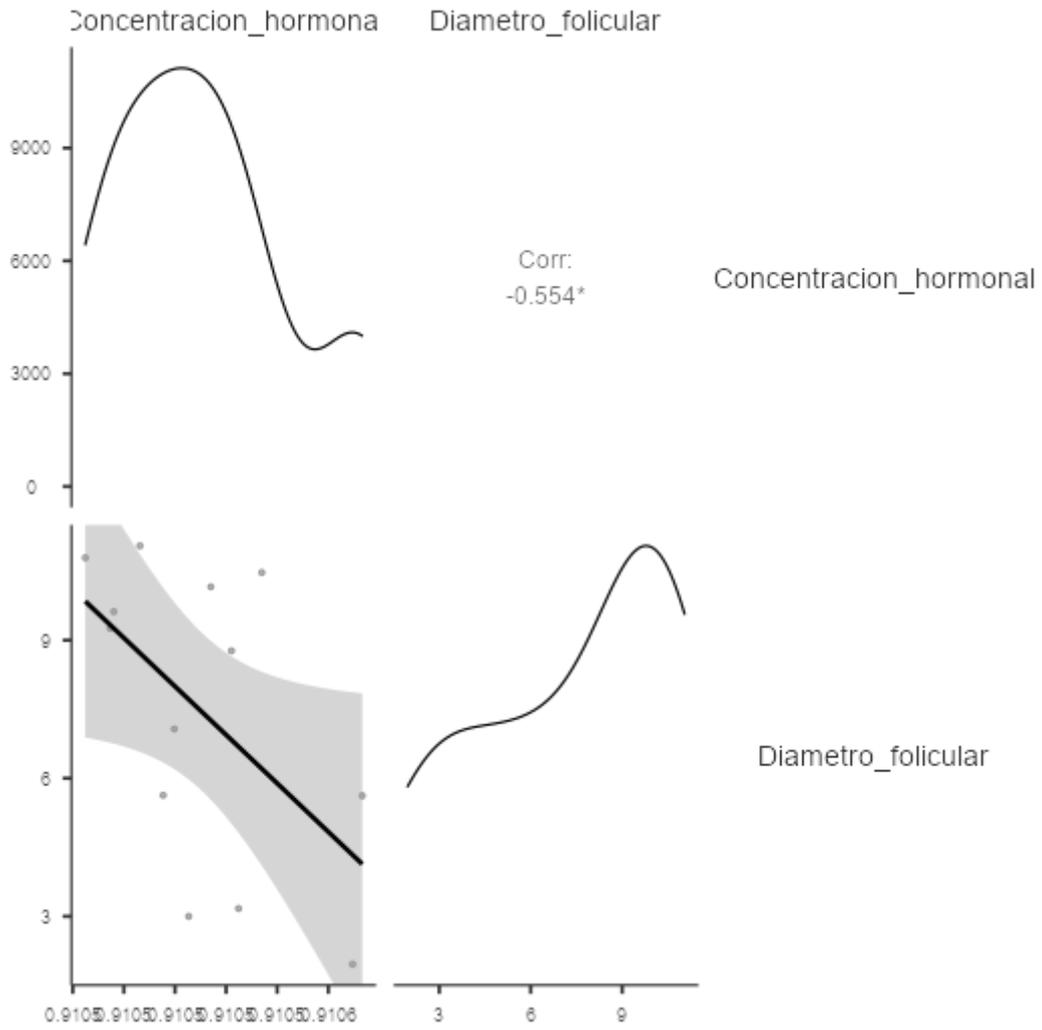
> remove(.Table)

	Diametro_folicular	Concentracion_hormonal
N	13	13
Missing	0	0
Mean	7.43	0.91
Std. error mean	0.90	9.42e-6
Median	8.77	0.91
Standard deviation	3.23	3.40e-5
Variance	10.45	1.15e-9
IQR	4.54	3.86e-5
Range	9.09	1.08e-4
Minimum	1.96	0.91
Maximum	11.05	0.91
Shapiro-Wilk W	0.89	0.94
Shapiro-Wilk p	0.0928	0.4243

Correlation Matrix

		Concentracion_hormonal	Diametro_folicular
Concentracion_hormonal	Pearson's r	—	
	p-value	—	
Diametro_folicular	Pearson's r	-0.55	—
	p-value	0.0496	—

Gráfico de Correlación lineal y gráfico de dispersión



PANEL FOTOGRAFICO



Imagen 1. Preparación de los animales, lavado perianal.



Imagen 2. Extracción de sangre en Vacutainer, para su posterior análisis.

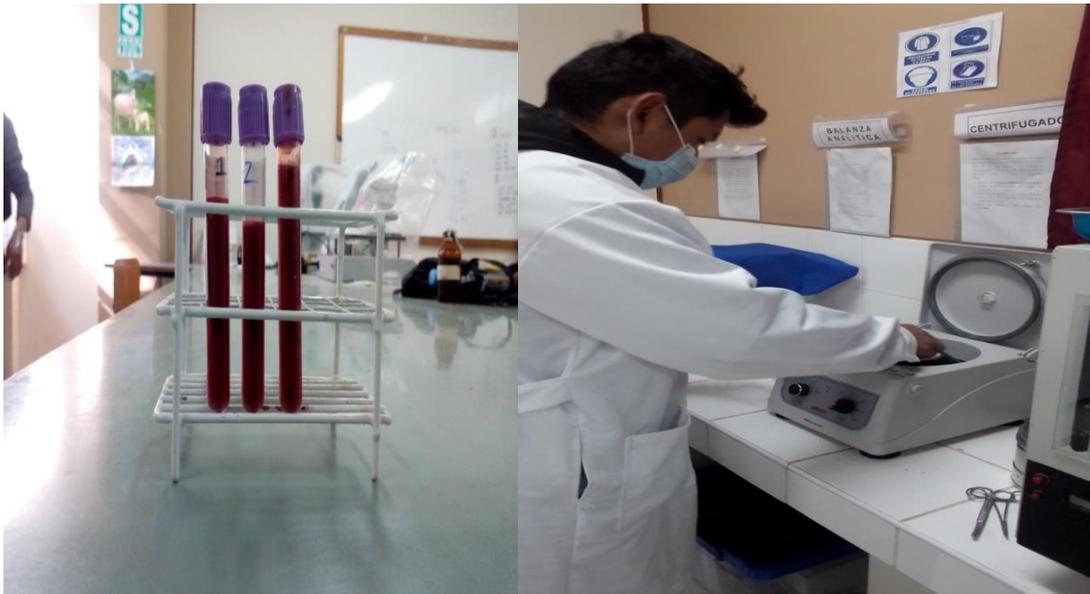


Imagen 3. Se toma 3 muestras, enumeradas por fechas y el nombre del animal para su identificación. Los vacuteiner se colocan en la centrifugadora 5000 rpm por 5 minutos.



Imagen 4. Concluida la centrifugación, se procede a extraer el suero. Posteriormente fueron almacenadas en congelamiento -20°C para su conservación, estas muestras luego se enviaron al laboratorio para la determinación de los niveles de Estradiol



Imagen 5. Toma de muestras se realizó en condiciones de higiene y limpieza utilizando guantes y limpiando previamente los labios vulvares de las hembras. Seguidamente se colocó hisopo estéril hacia la zona dorsal y aproximadamente al tercio medio de la vagina.



Imagen 6. Una vez realizada los movimientos circulares se colocó sobre la lámina portaobjetos que inmediatamente fue sumergida a la solución fijadora durante un minuto, seguidamente fue introducido a la tinción 1 durante un minuto lo mismo para la segunda tinción.

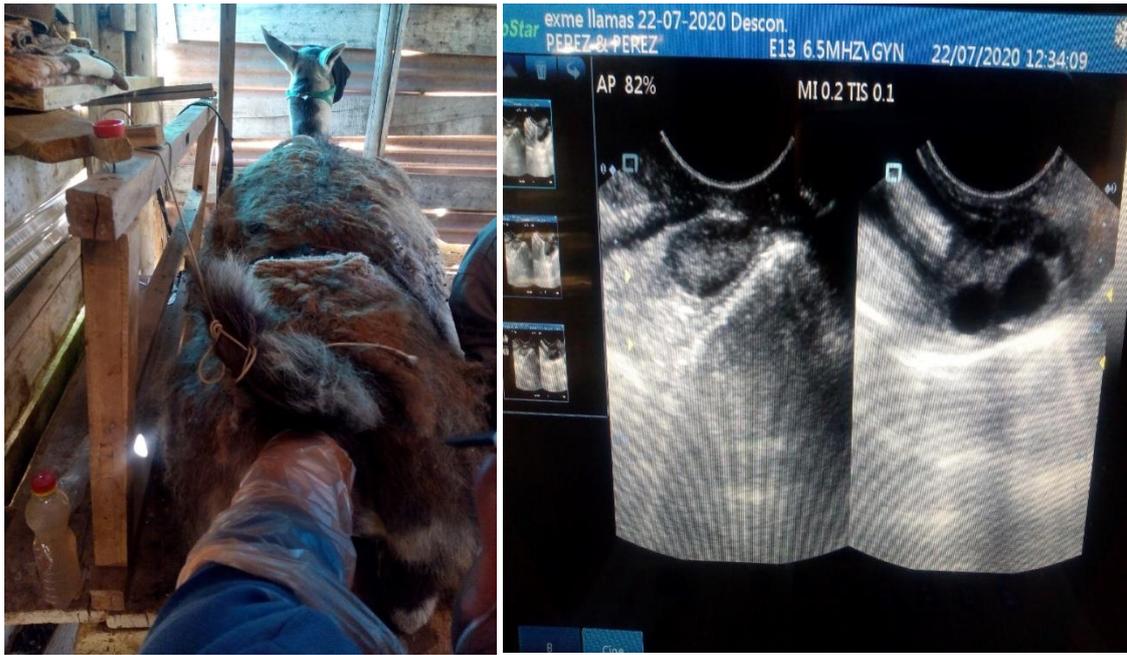


Imagen 7. Examen transvaginal simultáneamente en ambos ovarios en dos planos diferentes para cada animal diariamente por los periodos que dure el proceso de la dinámica folicular.