

Nota Técnica

Efectos de la esplenectomía sobre el Número Total de Leucocitos y Proteínas Séricas Totales en becerros *Bos taurus*

Emir Espinoza^{*1}, Ana Álvarez² y Carmen Madrid³.

^{*1}Universidad Simón Rodríguez. Instituto de Estudios Científicos y Tecnológicos (IDECYT). Altos del Cují, carretera La Mariposa, calle Mara, San Antonio de los Altos estado Miranda. *Correo electrónico: espinozaemir@yahoo.com

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Unidad de Sanidad Animal. Maracay. Aragua. Venezuela.

³Ejercicio Libre.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio comparativo del número total de leucocitos (NTL) y proteína sérica total (PST) en becerros *Bos taurus* esplenectomizados vs no esplenectomizados, a ser utilizados como multiplicadores de agentes hemotrópicos. Seis se esplenectomizaron por el método quirúrgico convencional y los tres restantes se utilizaron como controles. Las determinaciones de las variables se realizaron durante un lapso experimental de cinco semanas, utilizando el hemocitómetro para la obtención del NTL y procedimiento colorimétrico comercial para análisis de PST y sus componentes (albúmina, globulinas y relación A:G). Los datos se agruparon en medias y fueron analizados mediante la prueba no paramétrica “U” Mann-Whitney. No hubo diferencias estadísticas al comparar las medias estudiadas. Los hallazgos obtenidos no permitieron expresar conclusiones definitivas sobre las variables estudiadas. El cociente A:G (0,6) sugirió producción de anticuerpos en los animales esplenectomizados.

Palabras clave: Becerros *Bos taurus*, esplenectomizados, respuesta inmunitaria.

Splenectomy effects on the total number leukocytes and total serum proteins total in calves *Bos taurus*

ABSTRACT

The aim of this study was to perform a comparative study of the total number of leukocytes (TLN) and total serum proteins (TSP) in *Bos Taurus* calves splenectomized vs non splenectomized, to serve as multipliers haemotropic agents. Six were splenectomized for conventional surgical methods and the remaining three were used as controls. The variables determinations were carried out during an experimental lapse of five weeks, using the hemocytometer for the obtaining of the TLN and commercial colorimetric method for analysis of SPT and its components (albumin, globulins and ratio A:G). The data grouped in means and they were analyzed of the non-parametric “U” Mann-Whitney. The comparison between means did not show any statistical differences. The findings did not allow definitive conclusions about variables studied. The ratio A:G (0.6) suggested the production of antibodies in animals splenectomized.

Key words: Calves *Bos taurus*, splenectomized, immune response.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela, los sistemas de explotación bovina son afectados negativamente por una serie de factores entre los cuales figuran las infecciones por hemotrópicos (Protozoos y Rickettsias), cuyas patologías inciden sobre el mejoramiento de la producción y productividad de los rumiantes generadores de proteínas esenciales para la alimentación del colectivo venezolano. Estas hemoparasitosis son interactivas y dependientes de factores tales como, condiciones inmunológicas, patogenicidad de los parásitos y entornos ambientales para la instauración de la enfermedad en particular (Barrios *et al.*, 2011; Meléndez, 1998).

Las enfermedades transmitidas por garrapatas (Babesiosis y Anaplasmosis) constituyen uno de los mayores retos para la salud y el manejo de los bovinos en Latinoamérica, y por ende en el país. En áreas endémicas tropicales y subtropicales, el ganado adaptado, ha desarrollado resistencia a los vectores y a los patógenos transmitidos por ellos; no obstante el mejoramiento genético de los biotipos bovinos tradicionalmente explotados, mediante el uso de razas *Bos taurus* presentan obstáculos dada la susceptibilidad de este tipo de animales a estos patógenos hemotrópicos (Engwerda y Meeusen, 2010; Shkap *et al.*, 2007).

Conocidas las limitaciones de las diversas medidas disponibles para controlar y tratar la anaplasmosis y babesiosis bovinas, el método de inmunización (vacunación) con parásitos vivos atenuados y cepas menos patógenas, se perfila en el momento actual, como un medio de control sustentable al estimular en el hospedador una posible inmunidad por un largo tiempo que puede abarcar el período de mayor productividad del Bóvido. A pesar de las desventajas de este tipo de vacunas vivas, no se visualiza en un tiempo perentorio de esta era post genómica, el desarrollo y mercadeo de vacunas recombinantes contra la anaplasmosis y babesiosis bovina (Reinbold *et al.*, 2010; Shkap *et al.*, 2007). En consecuencia, el uso de animales (bovinos jóvenes) experimentales esplenectomizados continuaran siendo requerimientos esenciales para la implementación y producción de este tipo de inmunógeno (Shkap *et al.*, 2007; Lew y Jorgensen, 2005), a pesar de los avances en cultivos in vitro de estos hemoparásitos (Rojas *et al.*, 2011; Guillen y León, 2001).

Los becerros esplenectomizados experimentalmente (extracción quirúrgica del bazo) están inmunodeprimidos, comprometiéndose de esa manera la eliminación selectiva de los eritrocitos, la defensa inmunitaria y el almacenaje de las plaquetas (Reinbold *et al.*, 2010; Coetzee *et al.*, 2006); sin embargo, la deficiencia transitoria por ausencia de esta estructura linfática secundaria puede ser compensada en el caso de los bovinos, por los nódulos o ganglios hemolinfáticos, al poseer algunas similitudes anatómicas y funcionales con el bazo (Campal y Barreto, 2009; Bassan *et al.*, 1999).

Tomando en cuenta los criterios expresados por Barrios *et al.*, (2011) que al referirse a susceptibilidad y resistencia a noxas patógenas, como las generadas por parásitos y bacterias hemotrópicas, se deben considerar los mecanismos o elementos inflamatorios (respuesta inmunológica humoral y celular) generados por esos antígenos producidos o derivados de esos agentes extraños al hospedador bovino; se pretende reseñar en esta comunicación las observaciones preliminares obtenidas a través de un estudio comparativo del número total de leucocitos (NTL) y proteínas séricas totales (PST) entre bovinos *Bos taurus* esplenectomizados vs no esplenectomizados, a ser utilizados como multiplicadores de agentes hemotrópicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron para este estudio preliminar, nueve animales *Bos taurus*. Mediante el uso de la tabla aleatoria, seis (becerros) se adjudicaron para ser esplenectomizados (inmunodepresión) mediante acto quirúrgico convencional y los tres restantes sirvieron como controles. Ambas secciones experimentales fueron alojadas en ambientes separados. La alimentación consistió en el suministro de heno, alimento concentrado y agua *ad libitum*. La duración del experimento abarcó cinco semanas en los dos grupos de animales estudiados.

Las muestras sanguíneas fueron colectadas de la vena yugular durante las cinco semanas de la investigación. El conteo del número total de leucocitos (NTL) se efectuó mediante el uso del hemocitómetro, expresándose los resultados en gigas por litro (g/L = 10^9 /L). Los sueros para la determinación de la proteína sérica total (PST) y la albúmina se procesaron dos veces por semana durante el lapso experimental, a través de un método colorimétrico convencional,

utilizando reactivos comerciales y señalándose los resultados en g/L. Los valores de las globulinas y la relación albúmina: globulinas se determinaron por fórmulas matemáticas (Matheus y Figueredo, 2004).

Los datos se agruparon en medias para ser analizados estadísticamente a través de la prueba no paramétrica de “U” Mann-Whitney, con una significación máxima del 5% (Morales y Pino, 2009; Wiedenhorfer, 1993).

En cuanto a las consideraciones éticas, el procedimiento que se les realizó a los animales, cumplió con todas las condiciones y regulaciones de la Institución, para ensayo e investigaciones con especímenes mamíferos (MPPCYT, Código de Bioética y Bioseguridad, 2008)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como hipótesis de trabajo, se infirió la posibilidad que en los becerros esplenectomizados se produjera algún cambio en el NTL, por lo materializado en algunas informaciones científicas, las cuales señalan la presencia de diversas anormalidades inmunológicas después de las esplenectomías. Lo anterior, clínicamente se pudiera traducir en un mayor riesgo para la salud los animales intervenidos (Moreno, 2009; Ochoa *et al.*, 2003; Bassan, 1998).

La valoración de la media del número total de leucocitos (NTL) de los animales esplenectomizados y no esplenectomizados son mostrados en el Cuadro 1, donde se evidencia que los promedios obtenidos durante el ensayo experimental, oscilaron dentro de las cifras referenciales citadas para la especie (Cotter, 2001). Es notorio que en los animales controles, el promedio ($6,3 \times 10^9$) del NTL se ubicó ligeramente

por debajo del rango medio de referencia (8×10^9). Los becerros esplenectomizados no revelaron fluctuaciones indicativas de alteración en la cantidad del NTL (Cuadro 1), dado que sus valores mínimos y máximos se movieron dentro los límites inferiores y superiores de referencia. La comparación de las medias entre los grupos, no indicó diferencia significativa (Cuadro 1).

Los reportes científicos consultados, muestran suficientes testimonios que el bazo en diferentes animales y el hombre no es esencial para la vida (García, 2008; Bassan *et al.*, 1998). Las esplenectomías realizadas de forma experimental en animales o en humanos debidos a traumatismos abdominales, desencadenan modificaciones en los parámetros inmunológicos, citándose disminución de las inmunoglobulinas (IgG, IgM), de la respuesta primaria a antígenos, y de la respuesta de los linfocitos T (Moreno, 2009; Bassan *et al.*, 1998).

La posible explicación de no haber diferencia entre las medias en ambos grupos experimentales, puede ser sustentada por la conclusiones obtenidas por Mahmoud y Abou-Zeina (2008) y Bassan *et al.* (1999), quienes señalaron que otros órganos linfoides secundarios son capaces de realizar el papel suplementario en la función esplénica en bovinos jóvenes esplenectomizados, situación interesante a tomar en cuenta durante las inoculaciones experimentales de becerros inmunodeprimidos quirúrgicamente para la propagación de aislados y/o cepas de *Babesia* sp y *Anaplasma* sp en Venezuela. En el mismo orden de ideas, podemos indicar que los datos obtenidos en esta experiencia con la determinación del NTL, coinciden en parte con

Cuadro 1. Promedios del número total de leucocitos (NTL, gigas por litro¹) en los becerros esplenectomizados y sus controles.

Condición Fisiológica	Media	DE	Valor Mínimo	Valor Máximo
Esplenectomizados	8,5	2,8	5,5	11,8
No Esplenectomizados	6,3	0,1	6,2	6,4

¹ 10^9

los resultados señalados por Moreno (2009), quien trabajo con becerros esplenectomizados en Colombia.

En los Cuadros 2 y 3 se detalla el comportamiento de la concentración de PST y sus componentes cuando se trató de indagar en este estudio experimental, si la esplenectomía realizada en becerros *Bos taurus* producen o generan alteraciones en la concentración sanguínea de las mismas. Para el caso de las PST en los dos grupos de animales (esplenectomizados y controles), la media y los valores mínimos y máximos (Cuadro 2) variaron cercano a los rangos señalados por la literatura como normales para la especie (Cole; 1989; Kaneko, 1989), no evidenciándose a la comparación, diferencias estadísticas entre las medias de los dos secciones experimentales. Igualmente, en este estudio con respecto a los componentes de las PST, los resultados de las medias de la albúmina y las globulinas al ser comparadas, tampoco se encontraron diferencias estadísticas. La relación A:G osciló entre el límite inferior (LI, 0,6 g/L) y superior (LS, 0,9 g/L) citado por autores tales como Duncan y Prasses (2005) y Kaneko (1989).

CONCLUSIONES

Los hallazgos obtenidos en esta investigación, no permiten expresar conclusiones definitivas sobre las variables estudiadas. La comparación de las medias del NTL, PST, Albúmina y Globulinas no señaló diferencias estadísticas; no obstante se pudo observar en el grupo experimental esplenectomizado que la fracción de la globulinas aumentó ligeramente, lo cual podría sugerir producción de anticuerpos, situación que se refleja en el cociente A:G. Se recomienda profundizar este tipo de estudios, incluyendo la evaluación de otras variables y sus fracciones para confirmar o negar las observaciones aquí referidas.

LITERATURA CITADA

Barrios, M., E. Sandoval, O. Camacaro, D. Sánchez, L. Domínguez and O. Márquez. 2011. Leucograma y perfil proteico en becerros mestizos doble propósito, resistentes y susceptibles a la infestación natural por nematodos gastrointestinales. *Zootecnia Trop.*, 29(3): 363-372.

Cuadro 2. Promedios de las Proteínas Séricas Totales (PST, gramos por litro¹) en los becerros esplenectomizados y sus controles.

Condición Fisiológica	Media	DE	Valor Mínimo	Valor Máximo
Esplenectomizados	71	9	59	88
No Esplenectomizados	70	7	62	75

¹ g/L

Cuadro 3. Estimación de la Concentración Media¹ de la Albúmina, Globulinas y la Relación A:G en becerros esplenectomizados y sus controles.

Condición Fisiológica	Albúmina	Globulinas	Relación A:G
Esplenectomizados	26 ± 3	43 ± 1	0,6
No Esplenectomizados	29 ± 1	31 ± 1	0,9

¹ g/L

- Bassan, N., F. Vásquez, M. Vinuesa, P. Cerruti y S. Bernardi. 1999. Morphological alterations in hemal nodes in splenectomized cattle. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 51(5): 445-448.
- Bassan, N., M. Vinuesa, F. Pérez, S. Roma, S. Bernardi and M. Lagruta. 1998. Mastocitos azul alciano positivos en la mucosa del ciego de conejos normales y esplenectomizados, sensibilizados y desafiados con ovoalbúmina. *Analecta Veterinaria.* 18(1/2): 15-20.
- Campal, A y G. Barreto. 2009. Inmunología Veterinarias. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. Centro de Estudio para el Desarrollo de la Producción Animal. Camaguey. Cuba.
- Cole, E. 1989. Diagnóstico y Patología en Veterinaria. 4^{ta} ed. Interamericana-Mcgraw-Hill. México.
- Coetzee, J, M. Apley and K. Koncan. 2006. Comparison of the efficacy of enrofloxacin, imidocarb, and oxytetracycline for clearance of persistent *Anaplasma marginale* infections in cattle. *Vet. Therap.* 7(4): 347-360.
- Cotter, S. 2001. Hematology.Teton NewMedia. Wyoming.
- Engwerda, C and E. Meesusen. 2010. Parasites and the immune system: a perspective from down under. *Parasite Immunol.*32: 529-531.
- Duncan y Prasses. 2005. Patología Clínica Veterinaria. 4^{ta} ed. Multimédica. España.
- García, M. 2008. Fisiopatología del bazo e indicaciones de la esplenectomía. España. Universidad de Málaga. Disponible en línea: www.cirugiadelaobesidad.net/http://ww [Julio 10, 2012].
- Guillen, A y E. León. 2001. Cultivo in vitro de *Babesia bovis* bajo diferentes condiciones de manejo. *Veterinaria Trop.*26(2): 89-108.
- Kaneko, J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals.4th ed. Academic Press. San Diego. USA.
- Lew, A and W. Jorgensen. 2005. Molecular approaches to detect and study the organisms causing bovine tick borne diseases: babesiosis and anaplasmosis. *African Journal of Biotechnology.* 4(4): 292-232.
- Mahmound, M and H. Abou-Zeina.(2008). Current state in the serological diagnosis of babesiosis and haematological changes in splenectomised buffaloes.*Global Vet.* 2(5): 271-281.
- Matheus, N y A. Figueiredo. 2004. Peso corporal: su relación con la concentración sérica de proteínas, lípidos y glucosa en cabras mestizas criollas. *Gaceta de Ciencias Veterinarias.* 9(2): 38-43.
- Mélendez, R. 1998. Revisión integral de los factores epidemiológicos que inciden en la relación *Boophilusmicroplus* – Bovino – *Babesiaspp.* *Rev. Cient. FCV-LUZ.* 8(1): 25-34.
- Morales, G y L. Pino. 2009. Estadísticas no paramétrica aplicada a las Ciencias de la Salud. Universidad Católica Andrés Bello. Caracas.
- Moreno, N. 2009. Valoración clínico hematológica de bovinos pre y post esplenectomía y post inoculación con una dosis patógena de *Babesia bovis*. Tesis pregrado. Programa Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Agropecuaria. Universidad de la Salle. Bogota. Colombia.
- MPPCYT-FONACIT. 2008. Código de Bioética y Bioseguridad. 3^{ra} ed. Venezuela.
- Ochoa, J., M. Di Silvio., A. Lichtiger., L. Padilla y T. Billiar. 2003. Efectos de las citosinas esplénicas sobre la función hepatocelular: La esplenectomía disminuye la producción hepática de óxido nítrico. *Rev. Especialidades Médico Quirúrgicas.* 8(3): 47-51.
- Reinbold, J., J. Coetzee, L. Hollis, J. Nickell, C. Riegel, J. Christopher and R. Ganta. 2010. Comparison of iatrogenic transmission of *Anaplasma marginale* in Holstein steers via needle and needle-free injection techniques. *Am. J. Vet. Res.* 71(10): 1178-1187.
- Rojas, E., J. Mosqueda, J. Álvarez, R. Hernández, J. Ramos, C. Rojas, C. Vega y J. Figueroa. 2011. Transmisión de cepas atenuadas de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* por garrapatas *Rhipicephalus(Boophilus) microplus*. *Rev. Méx. Cienc. Pecu.* 2(3): 267-281.

Shkap, V., A. de Vos., E. Zwegarth and F. Jongejan. 2007. Attenuated vaccines for tropical theileriosis, babesiosis and heartwater: the continuing necessity. *Trends in Parasitology*. 23(9): 420-426.

Wiedenhofer, H. 1993. Pruebas no paramétricas para las ciencias agropecuarias (muestras pequeñas). Pub: FONAIAP. Serie A. Maracay, Venezuela.