



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**VALORES NORMALES DE LAS SUBPOBLACIONES
DE LINFOCITOS EN CERDOS DE 1, 2, 3 Y 10
SEMANAS DE EDAD**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A**

MARIA ISABEL CISNEROS MORALES

ASESOR:

MVZ., MS., PhD. ANTONIO MORILLA GONZALEZ

COASESOR

MVZ., DOLORES GONZALEZ-VEGA Y AGUIRRE



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

C O N T E N I D O

I. INTRODUCCION	Pág. 1
II. OBJETIVOS.....	8
III. MATERIAL Y METODOS	9
IV. RESULTADOS	16
V. DISCUSION	27
VI. CONCLUSIONES.....	30
VII. BIBLIOGRAFIA.....	31

I. Introducción

Durante la lactancia ocurre la mayor parte de las pérdidas en los grupos porcinos llegando a constituir el síndrome diarréico en ocasiones hasta el 80% de las causas de mortalidad (27).

Los agentes infecciosos que comunmente causan el síndrome diarréico son variados, entre los que se encuentran E. coli, Klebsiella, Rotavirus, Pararotavirus, virus de la Gastroenteritis Transmisible del cerdo, Astrovirus, Calicivirus, Isospora suis, entre otros. La mayoría de los microorganismos no producen brotes de elevada mortalidad, pero provocan constante diarrea en los animales lactantes (12), la diarrea probablemente ocurre al existir una interrelación de los agentes para provocar el síndrome. Es por este motivo que se ha recurrido a la inmunización de las cerdas y de los lechones, para el control de las diarreas y disminuir la contaminación ambiental mediante el uso de antibióticos y medidas de manejo.

Respuesta inmune del recién nacido

Para realizar la inmunización de los lechones es necesario conocer el estado de maduración de su sistema inmune. El feto mientras se encuentra en el útero no tiene necesidad de montar una respuesta inmune, sin embargo, a partir de la segunda mitad de la gestación, puede responder a estímulos antigénicos produciendo anticuerpos. A pesar de que el animal puede responder en la etapa uterina, al momento del nacimiento no pueda hacerlo pues su sistema inmune está deprimido. Algunos mecanismos de defensa, como el calostro disminuye la respuesta del recién nacido; los corticosteroides se encuentran en niveles elevados al nacimiento persistiendo por aproximadamente 60 días. Las células T supresoras están elevadas y los

Linfocitos B son inmaduros.

Se ha determinado que el lechón empieza a responder contra algunos antígenos hasta los 10 días de edad, sin embargo, la respuesta es débil y se considera que por lo menos hasta después del destete o a las 6 semanas de edad el animal es capaz de defenderse por sí mismo (12).

Mientras el lechón es apto para montar su respuesta, el calostro desempeña un papel de gran importancia. Las cerdas pueden ser resistentes a gérmenes del ambiente y esa inmunidad es pasada íntegramente al recién nacido, lo cual le permite ser colonizado por la flora normal impidiendo que los microorganismos se multipliquen demasiado y causen enfermedad. Varios de los elementos de resistencia que pasan a través del calostro son: calostrocíninógeno, inhibidor de la tripsina, inmunoglobulinas, inmunidad celular, sustancias bactericidas y bacteriostáticas, factores de colonización y probablemente factores estimulantes del sistema retículo endotelial. Estas sustancias funcionan en forma coordinada; por ejemplo el calostrocíninógeno transformado en calostrocínina incrementa la permeabilidad capilar del intestino permitiendo el paso de macromoléculas a la circulación general. También el inhibidor de la tripsina impide que se destruyan los anticuerpos u otras proteínas importantes. Es probable que a través del calostro estén pasando otros elementos, como la inmunidad celular (12).

Importancia de los linfocitos en la respuesta inmune

A partir de la sexta semana de edad el lechón es capaz de dar una respuesta inmune, cuya base está dada por la maduración de las células del tejido linfoide. Las principales células involucradas son linfocitos y fagocitos mononucleares. Existen

2 grandes subpoblaciones de linfocitos, los timo derivados (T) y los "bursa equivalentes" (B).

Es necesaria la intervención de ambas poblaciones para dar una respuesta inmune. Las células B son precursoras de las plasmáticas, productoras de anticuerpos. Los linfocitos T no sintetizan anticuerpos y pueden ser divididos en cuatro grupos funcionales: 1) Células T cooperadoras, las cuales cooperan con macrófagos, linfocitos T y B en la respuesta humoral; 2) T supresoras, estas células regulan y restringen la respuesta inmune; 3) Linfocitos T citotóxicos, son importantes en la eliminación directa de antígenos celulares, tales como tumores o células infectadas por virus o microorganismos intracelulares; 4) Células T de hipersensibilidad retardada que amplían la respuesta inmune inflamatoria para eliminar células alteradas a través de la producción de linfocinas (7,9,17).

Además de estas células son necesarios los macrófagos para que ocurra la respuesta inmune, utilizando varios mecanismos. Cuando un antígeno unido a un macrófago es mostrado a un linfocito T cooperador la respuesta inmune es mayor que si el antígeno solo se pone en contacto con la célula. Así mismo los macrófagos afectan la inmunogenicidad del antígeno, no solo por presentarlo en su superficie, sino también por producirle alteraciones químicas. El linfocito T cooperador liberará el factor activador de las colonias que afectan al macrófago, este secreta la interleucina 1, aumentando la viabilidad de los linfocitos T cooperadores que por ellos mismos aumentan la respuesta inmune (7,11,14). Estos a su vez producirán la interleucina 2 que va provocar la diferenciación dando origen a una población de células efectoras y de memoria, ya sean T de hipersensibilidad retardada que li-

beran linfocinas o T citotóxicas. También el linfocito T cooperador estimulará a los linfocitos B por medio de un factor estimulador de las células B, éstas se van a dividir y diferenciar dando origen a las células plasmáticas, productoras de anticuerpos y células de memoria. Una vez alcanzada su plena diferenciación las células plasmáticas mueren al cabo de 1-2 semanas (7,9,26).

Subpoblaciones de linfocitos

Se han encontrado diversas subpoblaciones de linfocitos tanto en humanos, cerdo y otros animales domésticos, caracterizados por los receptores en la superficie de la membrana celular o por determinantes antigénicos. Los linfocitos B de humanos y la mayor parte de los mamíferos están caracterizados por la presencia de inmunoglobulinas de superficie, la mayor parte de ellas es la IgM, aunque también pueden estar en la membrana IgD, IgG e IgA. La mayoría de las células B tienen un receptor para el complejo antígeno-anticuerpo, que parece ser específico a la porción Fc de la molécula de la inmunoglobulina. Así mismo se ha demostrado la existencia de un receptor para el tercer componente del complemento en algunas células B, usando eritrocitos cubiertos con anticuerpos y C; hay sitios para C3b, C3d y C4. Se ha sugerido que la aparición del receptor de complemento en la membrana de los linfocitos es indicativo de maduración celular (7,9,21,26).

En los linfocitos T los antígenos de superficie aparecen durante la maduración. En el ratón incluye el antígeno Thy-1 (antes theta), TL (antígeno timoleucemia) y los antígenos Lyt-1, Lyt-2, Lyt-3. Las células T son capaces de unir glóbulos rojos de barrego y formar rosetas, este marcador es llamado ER y es el más

aceptado para identificar linfocitos T. Recientemente una modificación a esta prueba, llamada prueba activa de rosetas, en la que se forman rosetas después de un breve periodo de incubación, es útil para determinar linfocitos con mayor sensibilidad para actuar frente a un antígeno, estas rosetas son las llamadas de alta afinidad. Los linfocitos formadores de rosetas autólogas que se unen a eritrocitos de su misma especie son considerados como inmaduros (4,7,18).

Existe una tercera población de linfocitos llamados "null", esta población no posee ninguno de los marcadores de superficie clásicos para linfocitos T o B. Sin embargo, estas células merecen atención pues constituyen un alto porcentaje de los linfocitos (7,11,15).

También en otras especies se han realizado trabajos para la cuantificación de linfocitos. Por ejemplo, linfocitos de hombre y mono forman rosetas con eritrocitos de cerdo, mono, borrego y cabra; linfocitos de perro con glóbulos rojos de cuy; cuy con conejo y gato con cuy, rata y ratón.

En equinos se ha encontrado 38% de rosetas E con eritrocitos de cuy; también se ha encontrado el receptor Fc, estos tipos de rosetas no se afectan con el virus de anemia infecciosa equina. Las células T de bovino son difíciles en sus requerimientos para la formación de rosetas E, éstas se incrementan tratando los glóbulos rojos con neuraminidasa; además del uso de eritrocitos de borrego también se ha reportado el uso de glóbulos rojos de pollo. Así mismo se han detectado receptores para inmunoglobulina de conejo y ratón y receptor de complemento de cuy (3,9,28).

Durante la última década, la identificación de subpoblaciones de linfocitos

circulantes en humanos ha sido ampliamente usada como instrumento de diagnóstico en inmunología clínica, pero la mayoría de los valores conocidos corresponden a adultos y los estudios en niños son menos numerosos. A pesar de esto se ha logrado obtener los siguientes datos en recién nacidos, niños de 1 mes a 2 años de edad y se compararon con adultos sanos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de marcadores de linfocitos en humanos

<u>Marcador</u>	<u>Adultos</u>	<u>Niños</u>	<u>Neonatos</u>
E (T)	69.3	61.9	56.9
Receptor Fc-IgG	25.9	21.4	24.5
Receptor complemento	25.8	24.5	20.5
Receptor Fc-IgM	58.8	59.4	21.8

Los resultados muestran que los marcadores de superficie de los linfocitos de los niños y neonatos difieren de los adultos en varios aspectos, quizá debido a la inmadurez del sistema inmune de los niños (8).

También es conveniente conocer como es la dinámica de maduración de los linfocitos. El timo es el primer órgano linfoide, su tejido forma un almacén epitelial para la subsecuente migración de células primarias prethímicas. El timo actúa en la diferenciación celular en dos modos: 1. Modula la transformación de células prethímicas y 2. Después de que las células post-thímicas han migrado al tejido periférico, el timo continúa afectando la cantidad y funcionalidad de las células. Las células primarias entran a la región cortical y la región subcapsular donde rápidamente se dividen. Un gran porcentaje de dichas células mueren antes de dejar el timo. Las células

las gradualmente migran de la corteza a la médula, donde adquieren las características de T maduros. De aquí las células migran a los órganos linfoides periféricos; una vez ahí van a continuar su maduración por condiciones del micromedio ambiente y al tener contacto con el antígeno. Durante su migración el linfocito va a perder y a adquirir diferentes marcadores de superficie (7,24).

En los mamíferos no ha sido posible identificar claramente el sitio anatómico donde ocurre la maduración de los linfocitos B, aunque hay evidencia en favor de la médula ósea a hígado fetal y bazo como sitios equivalentes a la Bursa de Fabricio de las aves. En humanos los primeros linfocitos que muestran inmunoglobulina de membrana son células que portan IgM o IgG, las cuales se desarrollan en hígado fetal alrededor de las 9.5 semanas de gestación. La extensa proliferación de estas células resulta en un incremento de células B que a las 15 semanas la proporción de inmunoglobulinas presentes en las células es casi similar a la encontrada en un niño a término. En humanos como en pollos la secuencia de maduración es IgM-- IgG-- IgA (7).

En los cerdos como en otras especies es importante conocer como actúan las células, individual y colectivamente en la respuesta inmune. El desarrollo morfológico y funcional de los linfocitos requiere mayor estudio para determinar en que momento el feto o el neonato es capaz de responder al antígeno o en que estado es susceptible a agentes infecciosos.

Es importante también, conocer como es un sistema inmune sano, pues cuando se presenta un individuo con enfermedades infecciosas, auto inmunes o inmunodeficiencias, se podrá tener mejor conocimiento de como tratar de auxiliarlo.

II. Objetivos

1. Determinar los valores de las diferentes subpoblaciones de linfocitos circulantes en lechones lactantes y de esta manera conocer el estado de inmunidad de los cerdos.
2. Determinar la dinámica de maduración de los linfocitos circulantes durante la etapa de lactancia y que permita decidir cuando se puede empezar a inmunizar los lechones.
3. Al conocer los valores basales podremos evaluar el comportamiento inmunológico de los cerdos cuando se encuentren ante alguna enfermedad.

III. Material y métodos

Granja.- El estudio se hizo en la granja Experimental Porcina Zapotitlán, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, localizada en Zapotitlán, D.F.

Animales.- Se usaron 70 cerdos de 1, 2, 3 y 10 semanas de edad, de diferentes razas.

Obtención de la sangre.- Se obtuvieron 10 ml de sangre que se desfibrinó con perlas de vidrio; además se colectó 1 ml de sangre con heparina para determinación de valor absoluto de leucocitos y porcentajes de los diferentes tipos de leucocitos.

Obtención de linfocitos.- La sangre desfibrinada se lavó con solución salina balanceada de Hank (SSBH) por centrifugación 10 minutos a 400 Xg, se obtiene la interfase de leucocitos, se deposita suavemente en gradiente de densidad de Ficoll-Hypaque (Sigma-Wintrop) con densidad de 1.076 g/cm³: 24 partes de solución acuosa de Ficoll al 9% y 10 partes de Hypaque al 34%. Se centrifuga 25 minutos a 400 X g, se colecta la fracción media rica en linfocitos, éstos se lavan dos veces por centrifugación 10 min a 400 Xg con SSBH. El botón de linfocitos se resuspende en SSBH suplementada con 2% de suero fetal bovino, cantidad necesaria para ajustar a $4-5 \times 10^6$ células/ml. La viabilidad celular se determina con tripan azul al 0.2%. Para esto se mezclan 2 gotas de tripan azul con 2 gotas de suspensión de linfocitos; se cuenta el número de células vivas y muertas y se determina el porcentaje de viabilidad (Fig. A).

Obtención de glóbulos rojos de borrego (GRB) y cerdo (GRC). Se usó sangre de borrego obtenida con solución de Alsever's en proporción 50:50 y sangre de cerdo

adulto con la misma solución y proporción. La sangre de borrego se lavó con solución salina amortiguada de fosfatos (SSAF) pH 7.2 por centrifugación 10 min a 400 Xg, se retira el sobrenadante y los eritrocitos se lavan 2 o 3 veces más hasta que se elimina la hemoglobina libre. Del botón de eritrocitos se toma 0.5 ml y se suspende en 9.5 ml de SSAF; también se toma 0.2 ml y se suspende en 9.8 ml de SSAF para tener una concentración de 2%. El mismo procedimiento se sigue con la sangre de cerdo adulto.

Los GRB al 2% se usaron para formar rosetas totales, alta afinidad y los GRC para rosetas autólogas.

Sensibilización de GRB.- Se toma 5 ml de GRB al 5%, se mezcla con 5 ml de hemolisina (Micalab) en una unidad subhemolítica, se incuba 30 min a 37°C y después se incuba 30 min a 4°C; se lava 2 veces por centrifugación a 400 Xg. El botón se resuspende en 5 ml de SSBH. Esta suspensión se usó para rosetas Fc.

De los GRB sensibilizados para Fc se toma 2.5 ml y se mezcla con 2.5 ml de suero de conejo diluido (como fuente de complemento), se incuba 20 min a 37°C, se lava 3 veces a 400 Xg con SSBH. Del botón se toma 0.2 ml y se lleva a 10 ml con SSBH; esta suspensión se usó para rosetas de complemento.

Rosetas de linfocitos T

Totales: Se mezcla 0.2 ml de GRB al 2% con 0.2 ml de suspensión de linfocitos, se incuba a 4°C durante 18 hrs.

Alta afinidad: Se toma 0.2 ml de GRB al 2% y se mezcla con 0.2 ml de suspensión de linfocitos. Se incuba 15 min a 37°C. Se centrifuga 3 min a 350 Xg.

Autólogas: Se mezcla 0.2 ml de GRC al 2% con 0.2 ml de suspensión de linfocitos. Se incuba a 4°C durante 18 hrs. (Fig. B).

Rosetas de linfocitos B

Fc: Se mezcla 0.2 ml de GRB sensibilizados con 0.2 ml la suspensión de linfocitos. Se incuba 30 min a 37°C y se centrifuga 3 min a 350 Xg.

Complemento: Se mezcla 0.2 ml de GRB sensibilizados con 0.2 ml de suspensión de linfocitos. Se incuba 15 a 30 min a temperatura ambiente. Se centrifuga 3 min a 350 Xg (Fig. C y Cuadro 2).

La lectura se realizó mezclando volúmenes iguales de tripan azul al 0.2% con las diferentes suspensiones de rosetas. Las rosetas se dan como positivas cuando se une a la superficie del linfocito 3 o más eritrocitos. Se contaron hasta 200 linfocitos formadores y no formadores de rosetas; los resultados se dieron en porcentajes y valores absolutos.

Con la sangre heparinizada se hizo cuenta de leucocitos por medio del reactivo de Turk para obtener valores absolutos. También se realizaron frotis de esta sangre y se tñieron con Giemsa para dar porcentajes de linfocitos, monocitos, neutrofilos segmentados, en banda, eosinófilos y basófilos.

Fig. A. PURIFICACION DE LINFOCITOS

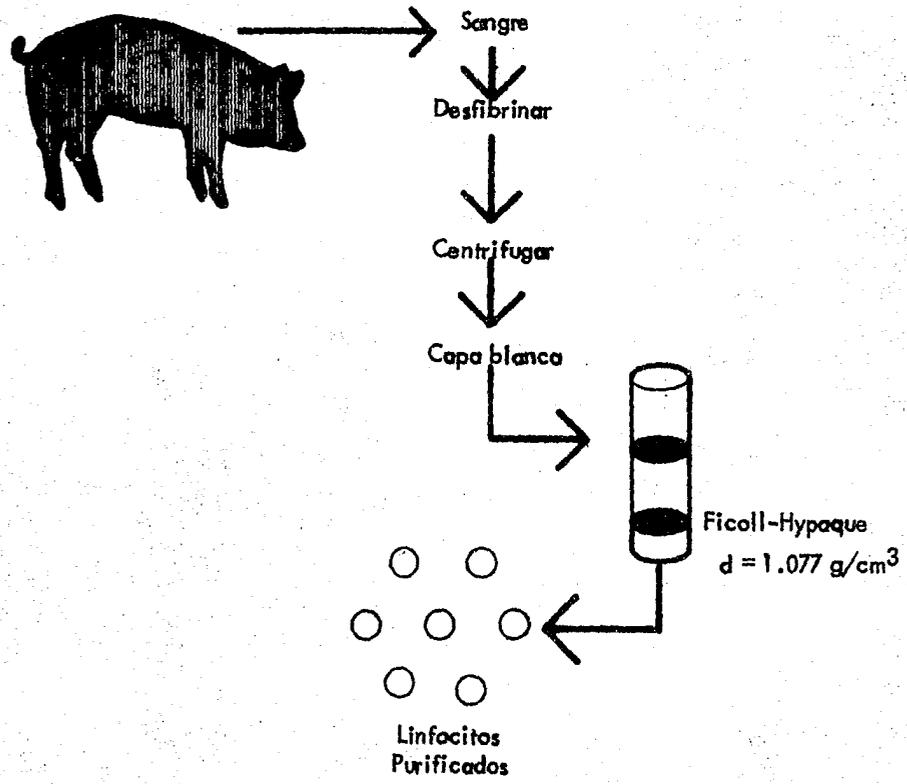


Fig.B. FORMACION DE ROSETAS T

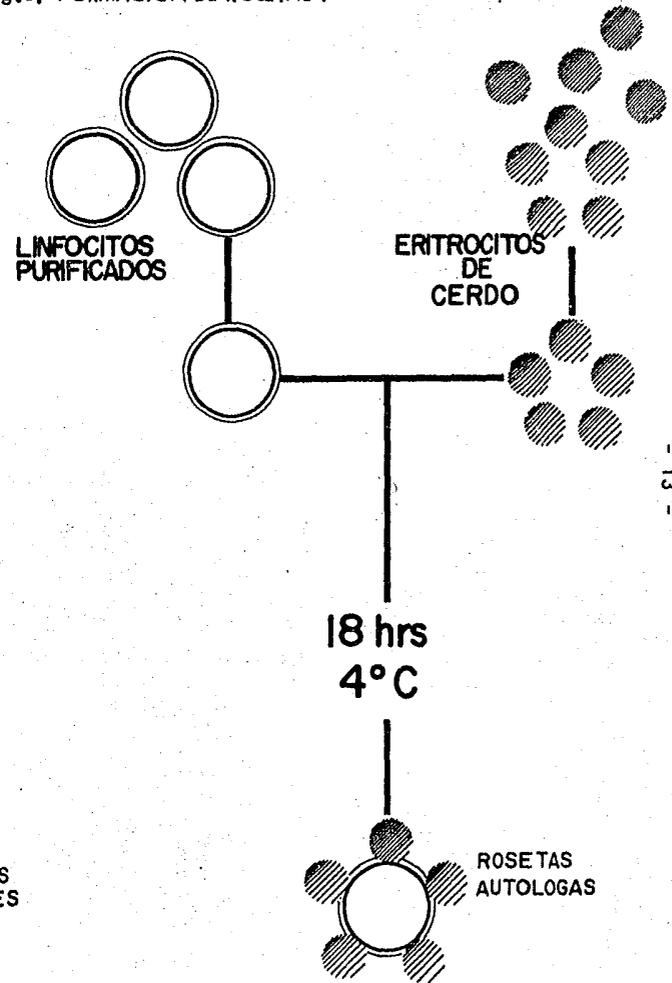
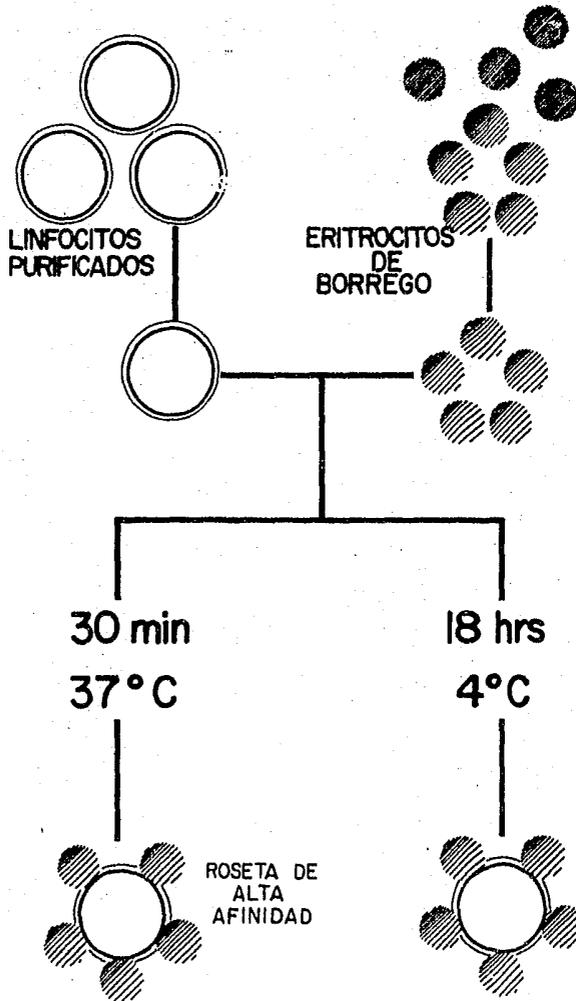
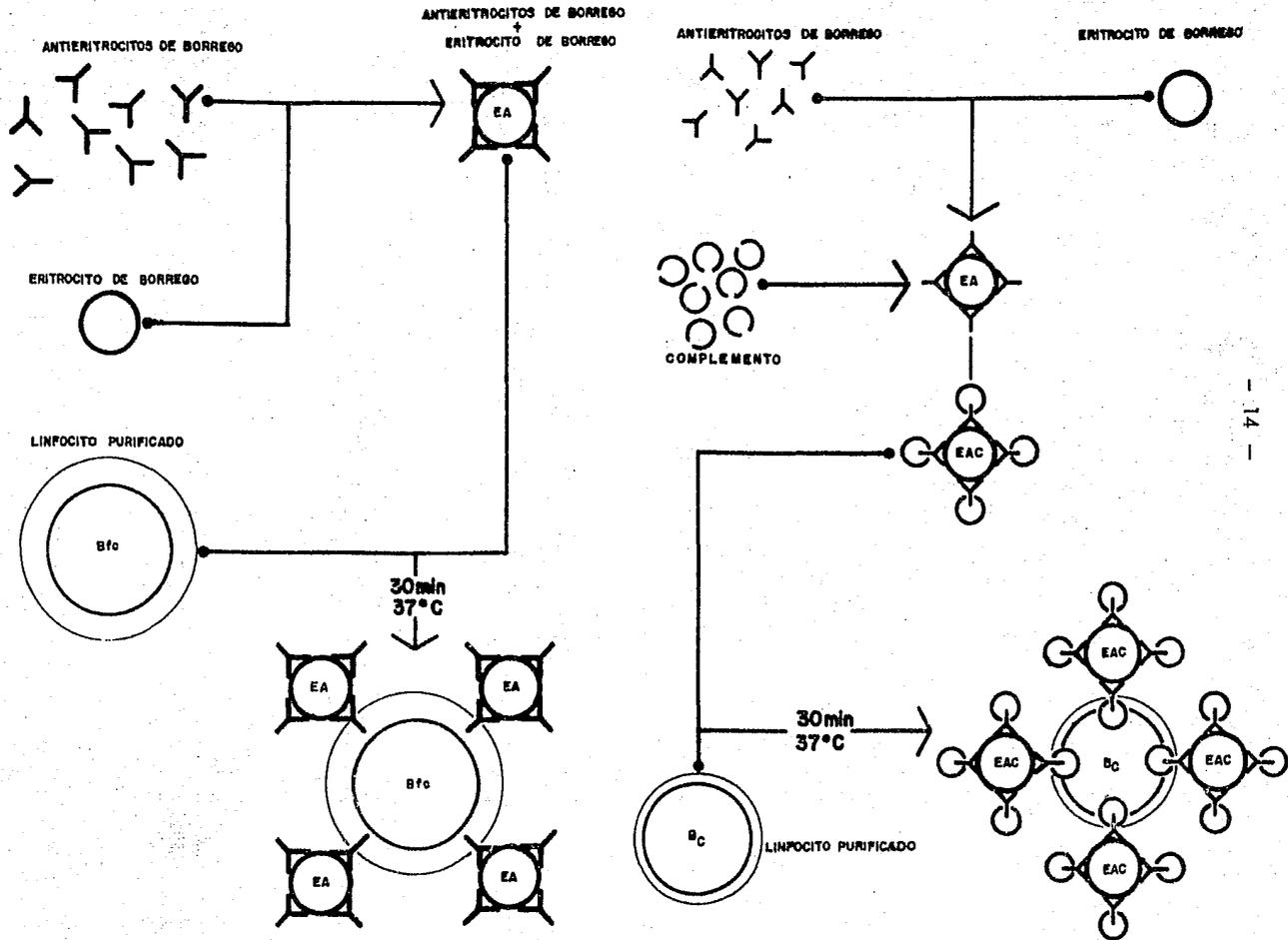


Fig. C. FORMACION DE ROSETAS B



Cuadro 2. Subpoblaciones de linfocitos de cerdo

LINFOCITOS T

- T_E totales: Forman rosetas con eritrocitos de borrego. Marcador de linfocitos T
- T_{aut}: T autólogos; forman rosetas con eritrocitos de cerdo. Marcadores de inmadurez
- T_{aa}: T de alta afinidad; forman rosetas con eritrocitos de borrego en 1/2 hora. Marcadores de madurez

LINFOCITOS B

- B_{fc}: Forman rosetas con eritrocitos cubiertos de anticuerpos. Poseen el receptor para el Fc de la inmunoglobulina
- B_c: Forman rosetas con eritrocitos cubiertos de complemento. Poseen el receptor para el factor C3b del complemento

LINFOCITOS Null

- Null: No poseen ninguno de los marcadores ante mencionados
-

IV. Resultados

Cuenta leucocitaria

La concentración de leucocitos en las primeras semanas de vida se encontró en niveles bajos (\bar{X} 7080 \pm 614 cels./mm³), conforme aumentó la edad se fueron alcanzando los valores normales (\bar{X} 14759 \pm 1023 cels./mm³). Esto se explica porque los valores de linfocitos, monocitos, neutrófilos y eosinófilos en las primeras semanas se encuentran bajos y a medida que avanza la edad, éstos aumentan; aunque los porcentajes entre ellos guardan la misma relación, pero existe una mínima variación (Fig. 1, 2, 3, 4 y 5).

Formación de rosetas T

Por medio de la formación de rosetas, es como se conocen las subpoblaciones de linfocitos. El porcentaje de linfocitos T totales en la primera semana fue de 33%, el cual aumentó hasta llegar a 47%; los valores absolutos se incrementaron de 1600 a 4180 cel./mm³, de la primera a la décima semana respectivamente.

En las células T de alta afinidad hubo elevación del 17% a 29.8%; los valores absolutos también aumentaron de 275 a 1246 cel./mm³. Mientras que con las células T autólogas ocurrió lo contrario, en la primera semana el porcentaje fue elevado 4% y al final del experimento bajó hasta 0.8%, en los valores absolutos también se encontró descenso de 64 a 33 cel./mm³ (Fig. 6 y 7).

Formación de rosetas B

El porcentaje de linfocitos con receptor para Fc en la primera semana estuvo elevado, mostrando un descenso hacia la segunda semana y se mantuvo estable a través de las 10 semanas de edad, la variación fue de 32 a 27.8%; en los valores absolutos

se observó un incremento de 1581 a 2458 cel./mm³.

En los linfocitos B con receptor para complemento, el porcentaje muestra una ligera variación, con tendencia a aumentar 24.4% a 27.4%; los números absolutos existe un ligero aumento de 386 a 673 cel./mm³.

Linfocitos "null": El porcentaje de estas células en las primeras semanas es alto y hay una disminución marcada hacia la décima semana de 34 a 24%, aunque los valores absolutos hay un pequeño aumento (Fig. 8 y 9).

Fig. 1 CONCENTRACIONES DE LEUCOCITOS TOTALES Y LINFOCITOS CIRCULANTES EN LECHONES

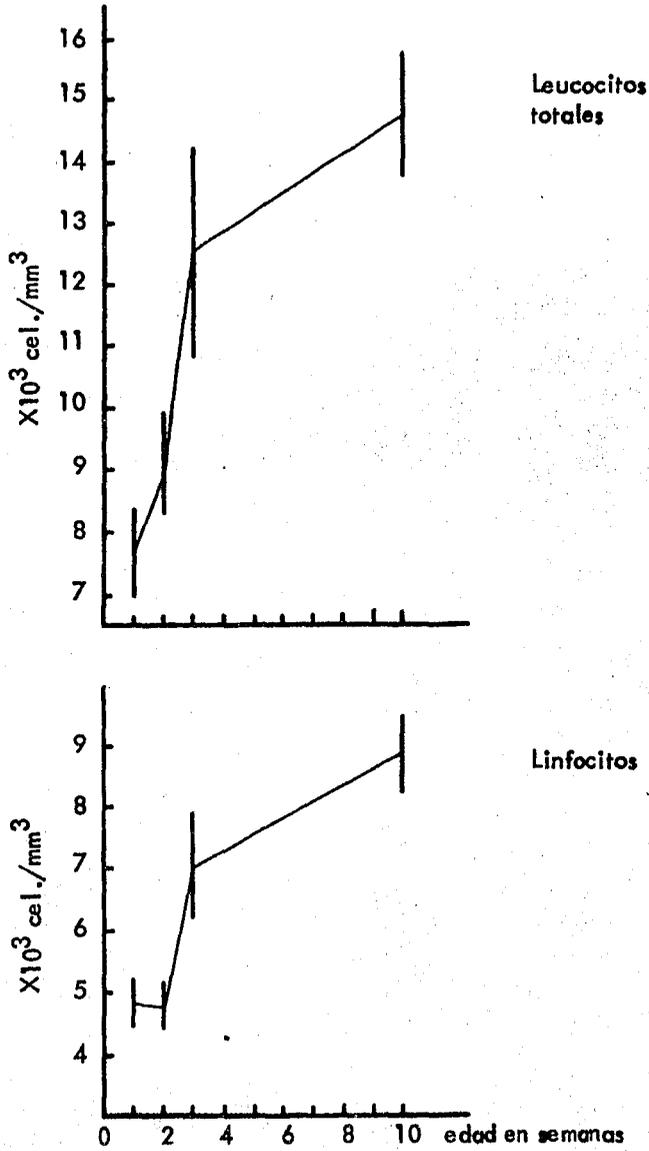


Fig. 2 CONCENTRACION DE NEUTROFILOS SEGMENTADOS Y BANDA Y DE EOSINOFILOS CIRCULANTES EN LECHONES

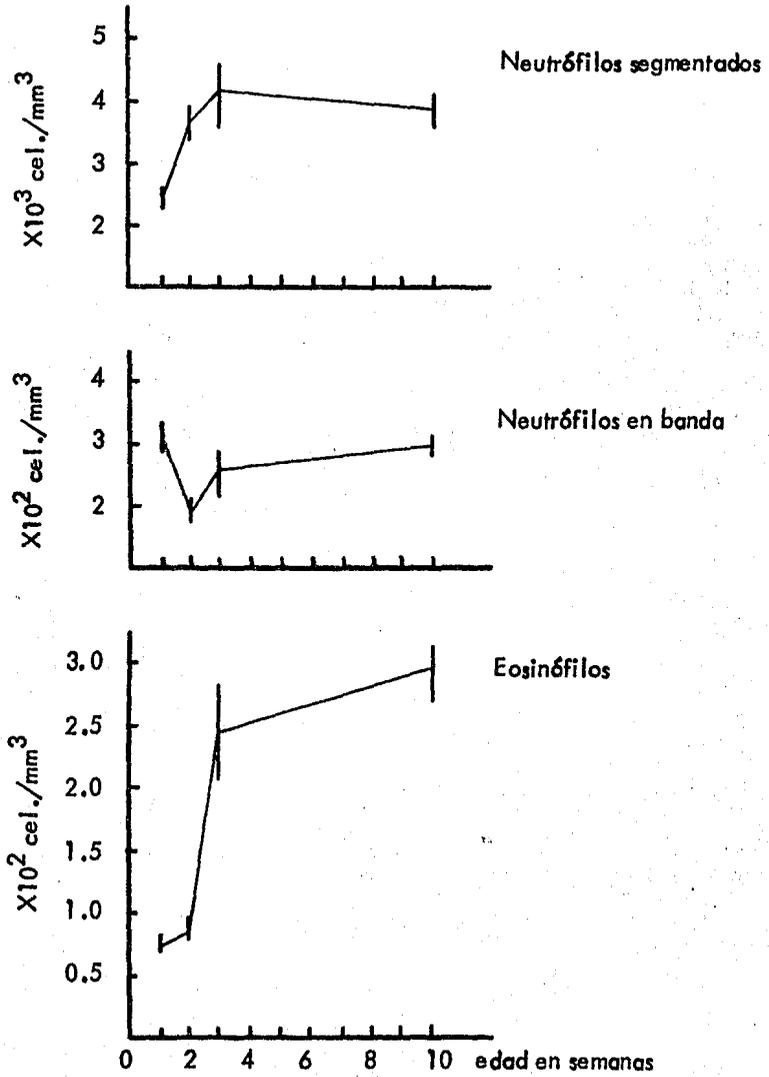


Fig. 3 CONCENTRACIONES DE MONOCITOS CIRCULANTES EN LECHONES

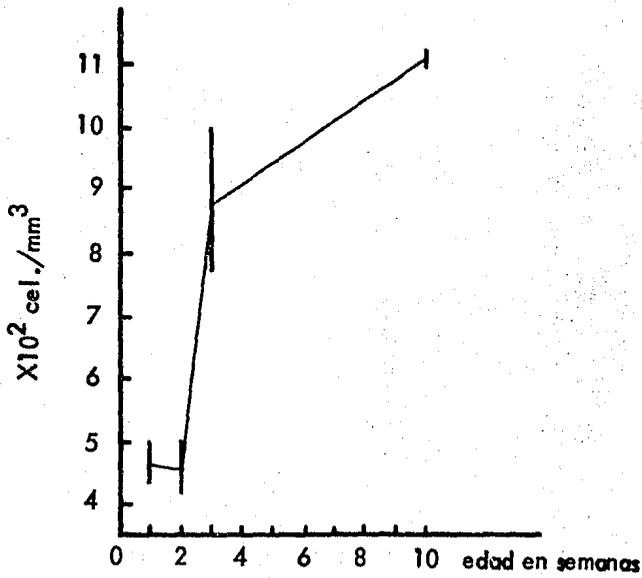


Fig. 4 Porcentaje de monocitos, neutrófilos en banda y eosinófilos circulantes en lechón

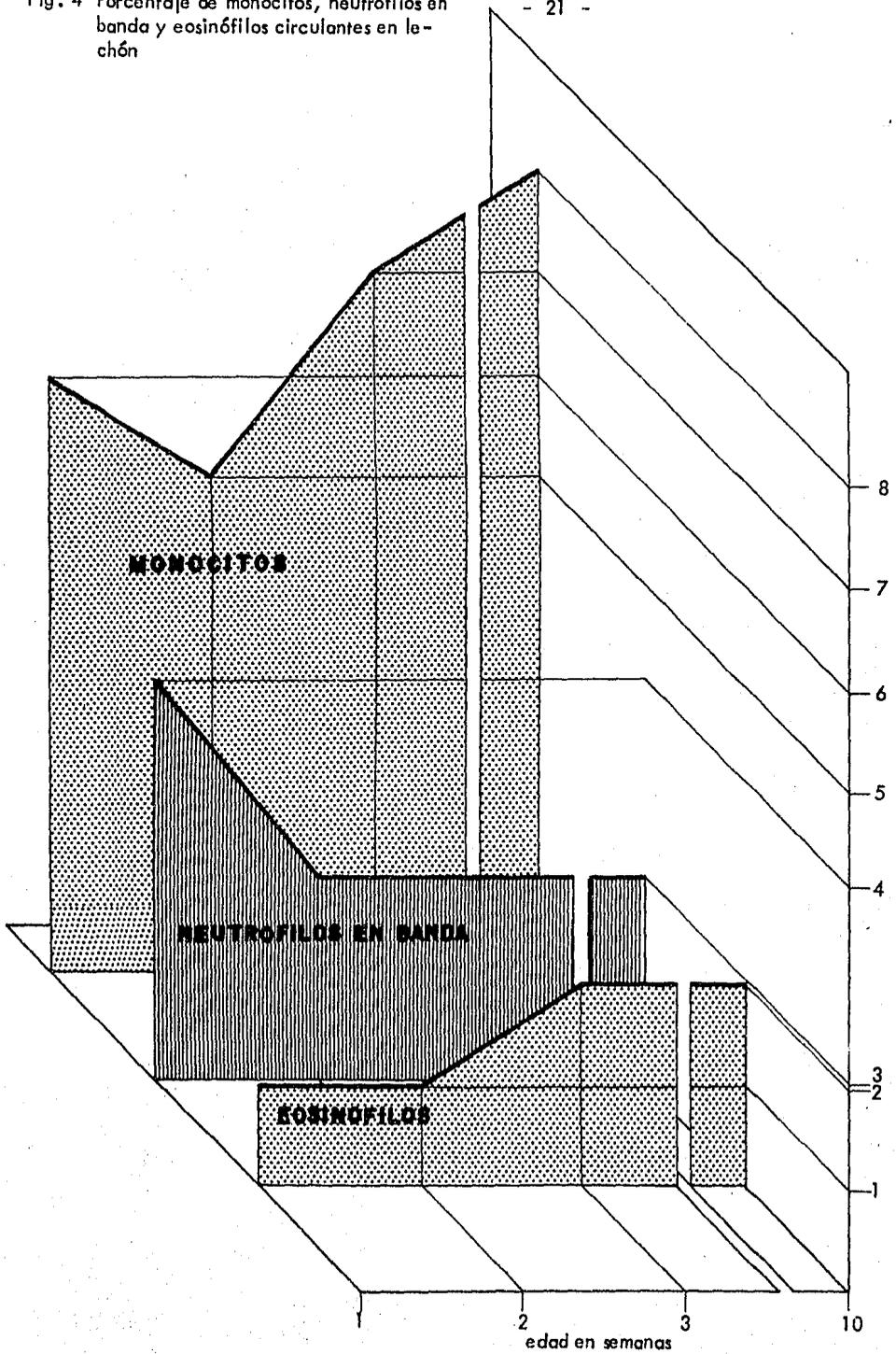


Fig. 5 Porcentaje de linfocitos y neutrófilos segmentados circulantes en lechón

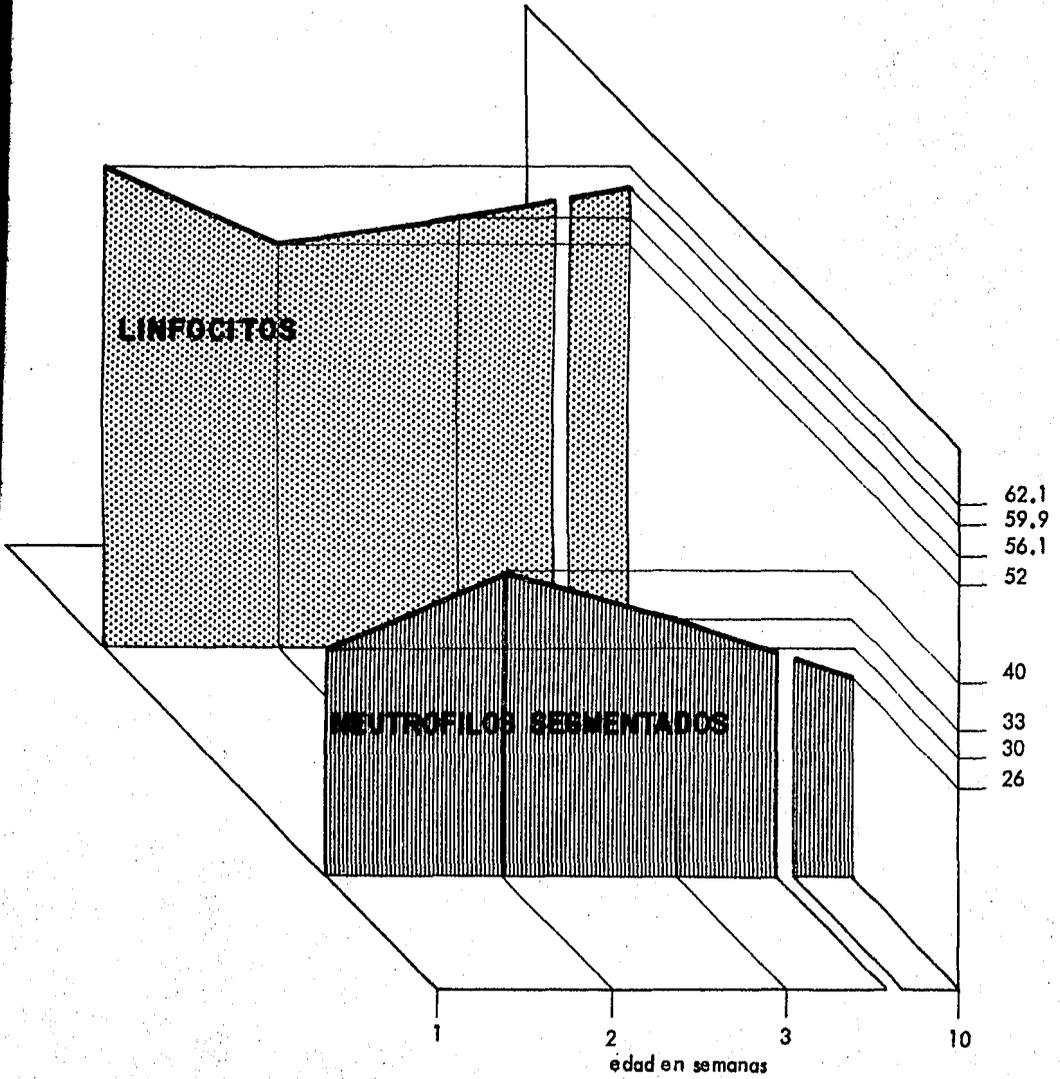


Fig. 6 CONCENTRACION DE LINFOCITOS T_E , T_{aa} y T_{au} CIRCULANTES EN LECHONES

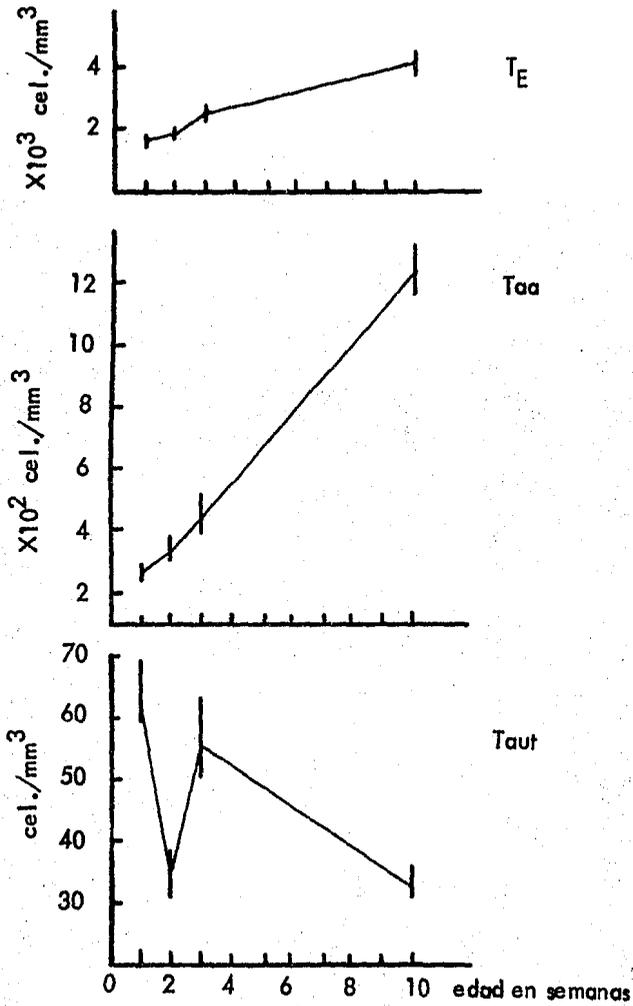


Fig. 7 Porcentaje de linfocitos T_E , T_{aa} y T_{au} circulantes en lechón

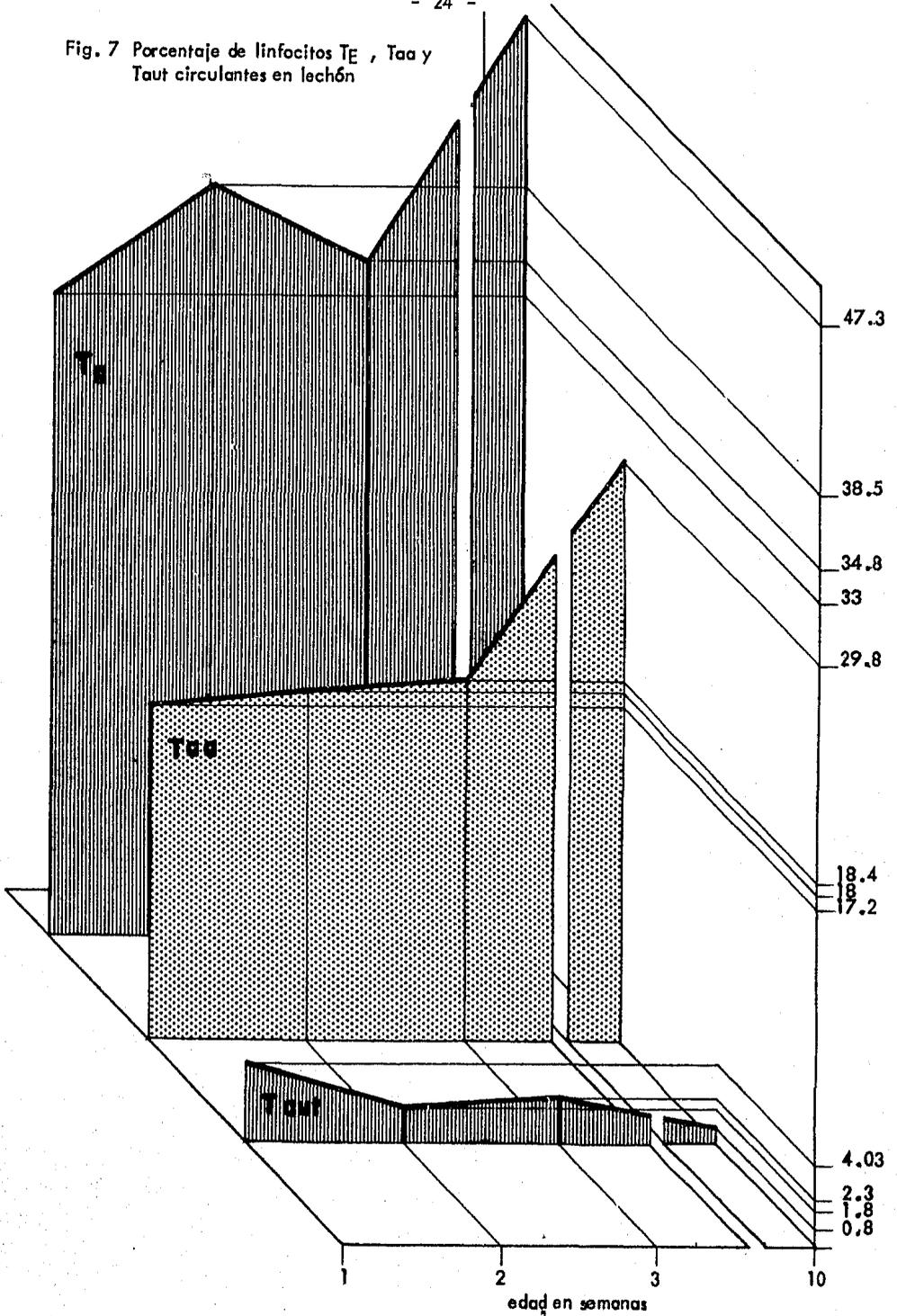


Fig. 8 CONCENTRACION DE LINFOCITOS Bfc, Bc y Null CIRCULANTES EN LECHONES

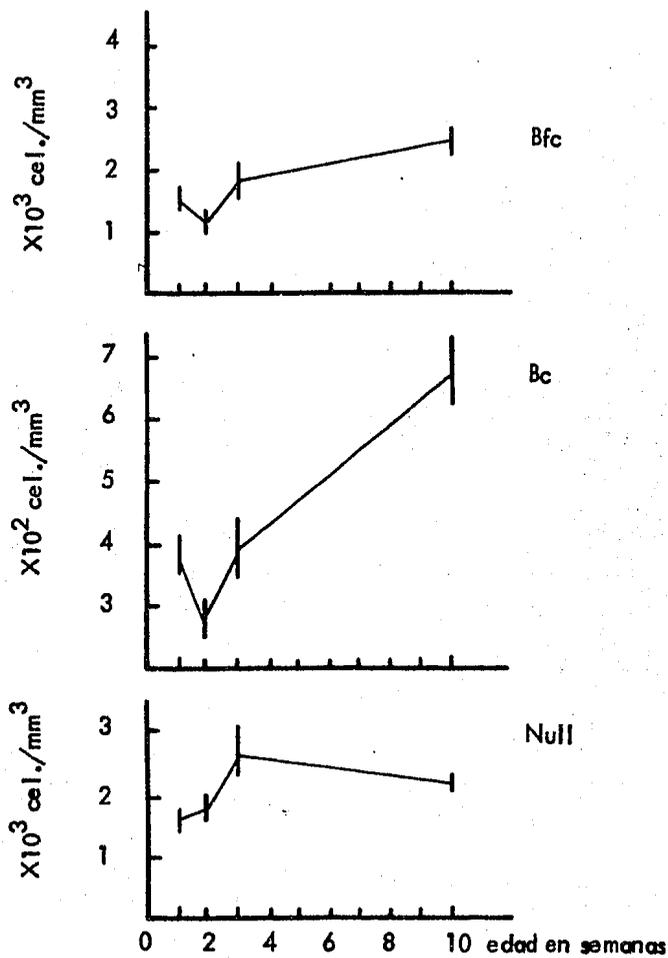
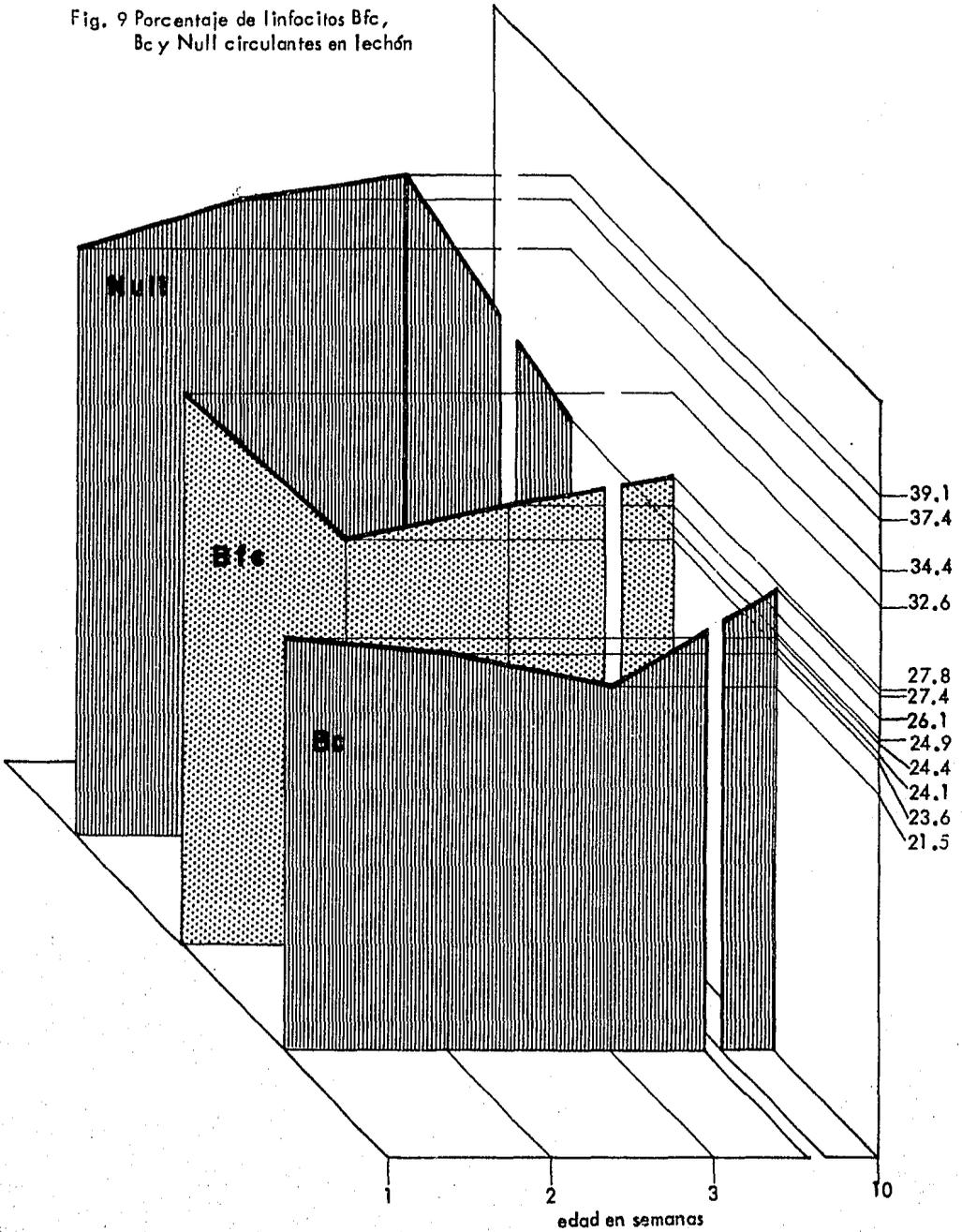


Fig. 9 Porcentaje de Linfocitos Bfc, Bc y Null circulantes en lechón



V. Discusión

Los lechones al momento del nacimiento llegan a un medio ambiente sumamente contaminado, causándole graves problemas de salud; es por esto que se ha buscado la forma de inmunizarlos lo más rápidamente posible para protegerlos de estas agresiones. Sin embargo, los individuos neonatos muestran inmadurez en su sistema inmune (12) y es necesario saber el momento en que el lechón es más apto para responder a un antígeno.

En este trabajo se observó que en efecto el lechón es inmaduro pues existe una leucopenia en las primeras semanas de edad; ésta se explica por las bajas cantidades de monocitos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y sus subpoblaciones y a medida que avanza la edad, estos valores van aumentando, aunque se conserva la proporción entre ellos. Los resultados que arrojó el experimento nos proporcionan los valores de las diferentes subpoblaciones de linfocitos circulantes en los lechones lactantes y de esta manera conocer el estado de inmunidad de los cerdos, cumpliendo con el primer objetivo de este trabajo.

En los lechones durante las tres primeras semanas de edad se observa inmadurez en su sistema inmune; esto se demuestra porque existen pocas cantidades y bajos porcentajes de los linfocitos T totales y de alta afinidad; estos últimos son marcadores de madurez y tienen mayor sensibilidad para actuar frente a un antígeno; mientras que las células T autólogas que son consideradas como inmaduras (4,7,18) presentan valores altos y van descendiendo conforme aumenta la edad.

Los datos obtenidos en las subpoblaciones de linfocitos B muestran un incremento conforme avanza la edad, que se podría interpretar por maduración celular, sobre

todo en las células B de complemento pues la aparición de este receptor ocurre cuando la célula es inmunológicamente madura (9).

En los valores obtenidos de los linfocitos "null" se observa que en las primeras de vida están aumentados y luego descienden, lo que podría indicar que en un principio fueron células que aun no se han diferenciado y con la edad pasan a ser linfocitos T ya que existen trabajos en los que el número de células "null" disminuyen después de la timectomía neonatal (15); además, se observa que mientras las células marcadas de madurez elevan sus valores, los de los linfocitos "null" descienden. Con los resultados obtenidos, se puede decir que se cumplió con el objetivo de determinar la dinámina de maduración de los linfocitos circulantes durante la etapa de lactancia que permita decidir cuando se puede empezar a inmunizar los lechones, pues se observa claramente los cambios que van ocurriendo a medida que aumenta la edad del lechón y se muestra que los lechones pueden comenzar a ser inmunizados a partir de la octava semana de edad, que es cuando se alcanzan los valores de animales adultos (4).

En comparación con los datos de humanos, se observa que al igual que los lechones, los neonatos tienen su población de linfocitos T disminuidos y conforme avanza la edad se adquieren los valores de adulto, así mismo las subpoblaciones de linfocitos B con receptor Fc-IgG y complemento se encuentran ligeramente disminuidas y más tarde se alcanzan los valores de adulto. Esta comparación muestra que los humanos también son inmunológicamente inmaduros al momento del nacimiento (8).

La maduración del sistema inmune podría ser explicada porque al momento de nacer el lechón se pone en contacto con un gran número de microorganismos como consecuencia del establecimiento de la flora normal en el aparato respiratorio, de la coloni-

zación del intestino y la absorción de material antigénico encontrado en el alimento. Es la exposición a estos múltiples y complejos antígenos lo que provoca la maduración del tejido linfoide, la aparición espontánea de cierto tipo de anticuerpos y sobre todo el aumento del número de células inmunológicamente competentes, capaces de reaccionar rápidamente a un nuevo contacto con los antígenos (23).

Los resultados obtenidos nos demuestran que los lechones al momento de nacer son inmunológicamente inmaduros, por lo tanto incapaces de montar una respuesta adecuada contra el antígeno. El saber esto es de gran utilidad, pues desde el punto de vista teórico no es recomendable vacunar a los lechones durante este período pues la respuesta no va a ser la adecuada; pero en forma práctica, en algunas granjas tienen problemas infecciosos severos como cólera porcino, donde se inmuniza a los animales desde el tercer día de edad. Cuando se necesita proteger a los lechones a tan temprana edad debe tomarse en cuenta si las cerdas han sido vacunadas, pues la presencia de anticuerpos maternos, por ejemplo contra cólera porcino van a neutralizar la vacuna. En estos casos, si deseamos proteger al lechón es recomendable inmunizar a las madres para que la protección se logre a través del calostro.

Por el trabajo realizado se conocieron los valores basales de las subpoblaciones de linfocitos en cerdos que nos es de gran utilidad ya que así podremos evaluar el comportamiento inmunológico de los cerdos cuando se encuentren ante alguna enfermedad cumpliendo de este modo el tercer objetivo.

VI. Conclusiones

- Por los valores encontrados se puede sugerir que los lechones al nacimiento tienen su sistema inmune inmaduro.
- En las primeras semanas de edad todas las células de la fórmula leucocitaria están disminuidas.
- Las diversas subpoblaciones de linfocitos T y B están disminuidas durante las primeras semanas de edad, excepto los T autólogos que son marcadores de inmadurez.
- En la decima semana de edad se encontraron los valores de adulto en las subpoblaciones de linfocitos.
- Aparentemente no es recomendable vacunar a los lechones durante las primeras semanas de edad.

VII. Bibliografía

1. Baxi, P.U., 1980. Use of fluorescein conjugated staphylococcal protein A as labeling agent for porcine lymphocytes. *J. Immunol. Meth.*, 35: 249-258.
2. Benacerraf, B., 1978. A hypothesis to relate the specificity of T lymphocytes and the activity of I Region-specific Ir genes in macrophages and B lymphocytes. *J. Immunol.*, 120: 1809-1811.
3. Binns, R.M., 1978. Sheep erythrocytes rosettes in pig, sheep, cattle and goats demonstrated in the presence of dextran. *J. Immunol. Meth.*, 21: 197-210.
4. Binns, R.M., 1980. Pig lymphocyte, behaviour, distribution and classification. *Monogr. Allergy*, 66: 19-37.
5. Cooper, J., 1979. *General Immunology*. 3^o ed. Massachusetts, Ed. American Society for Microbiology, Cap. 9.
6. Ewal, S., Freedman, L. and Sander, B.G., 1976. EA-rosette-forming cells in chickens: specificity of the Fc receptor and relationship to other surface antigens. *Immunol.* 31: 847-853.
7. Fundenberg, H.H., Stites, D.P., Cadwell, J.L. and Wells, J.V., 1978. *Basic and clinical immunology*. 2^o ed. California, Lange Medical Publications, Cap. 8, 10, 12.
8. Gmelig-Meylig, F., Dollenkamp, I., Zegers, B.J.M. and Ballieux, R.E., 1980. Lymphocytes populations in neonates, young children and adults as detected by six cell surface markers. *Acta Paediatr. Scand.*, 69: 13-19.
9. Higgins, D.A., 1981. Markers for T and B lymphocytes and their application to animals. *Vet. Bull.*, 51 (12): 925-1014.
10. Katz, P. and Fauci, A.S., 1979. Antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by subpopulations of human lymphocytes killing of human erythrocytes and autologous lymphoid cells. *Immunology*, 39: 407-416.
11. Kristensen, F., Kristensen, B. and Lazary, S., 1982. The lymphocyte stimulation test in veterinary immunology. *Vet. Immunol. Immunoph.*, 3: 203-277.
12. Morilla, G.A., 1983. Mecanismos de resistencia del lechón. *Porcivama* 95: 58-64.
13. Moticka, B.J., 1977. The presence of immunoregulatory cells in chicken thymus: function in B and T cell responses. *J. Immunol.* 119: 987-992.

14. Olsen, R.G. and Krakowka, S., 1979. Immunology and Immunopathology of animals domestic. Charles C. Thomas Publisher, Cap 6,7,9.
15. Outteridge, P.M., Binns, R.M. and Licence, S.T., 1982. Subpopulations of pig blood E- rosette-forming lymphocytes and thymus-dependent null cells: Separation by nylon wool columns, rosette formation and macrophage-dependent mitogen and antigen responsiveness. *Internat. Arch. All. Appl. Immunol.* 67: 18-24.
16. Pichler, W.J. and Broder, S., 1978. Fc-IgM and Fc-IgG receptor on human circulating B lymphocytes. *J. Immunol.*, 121: 887-890.
17. Potter, M.R. and Moore, M., 1976. Human mixed lymphocyte culture using separated lymphocyte population. *Immunol.*, 52: 359-364.
18. Salmon, H., Riviere, Y., Gouere, P. et Goret, P., 1975. Technique d'identification des sous-population lymphocytaires porcines. *Bull. Acad. Vet.*, 48: 199-220.
19. Salmon, H., 1978. Hemagglutination genes hétérophiles des thymocytes de porc, chien et home. *Ann. Immunol.*, 129C: 847-854.
20. Salmon, H., 1978. Spécificité d'un sérum anti-lymphocytes T de porc jugée par cytotoxicité et inhibition de la formation de rosettes naturelles. *Ann. Immunol.*, 129C: 571-548.
21. Salmon, H., 1979. Surface markers of porcine lymphocytes and distribution in various lymphoid organs. *Int. Arch. All. Appl. Immunol.*, 60: 262-274.
22. Salmon, H., 1982. Characterization of pig lymphocyte receptor for allogeneic and non-allogeneic erythrocytes. I. Apparent common identity of both receptors. *Clin. Exp. Immunol.*, 48: 452-457.
23. Salmon, H., 1984. Immunité chez le fœtus et le nouveau-né: modèle porcine. *Reprod. Nutr. Developp.*, 24(2): 197-206.
24. Shimizu, M., Pan, I.C. and Hess, W.R., 1976. T and B lymphocytes in porcine blood. *Am. J. Vet. Res.*, 37: 309-317.
25. Solimar, R. and Leibold, M., 1979. Characterization of subpopulations of pig lymphoid cells by immunological and enzyme markers. 35: 48-55.
26. Tizard, R.I., 1978. *Imunología Veterinaria 1° ed.* México. Ed. Interamericana, Cap. 6.

27. Uruchurtu, M.A., Méndez, M.D., Doportó, J.M., Romero, R.M., López, A.J. y Sánchez, G.F., 1976. Un estudio sobre la mortalidad en lechones en México. *Vet. Méx.*, 7: 111-123.
28. Vautherot, J.F. et Salmon, H., 1977. Adsorption éléctive des erythrocytes de cobaye sur différentes sous-populations leucocytaires du cheval. *Bull. Acad. Vet. de France*, 50: 293-302.