

86  
2e.



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia



## VALORES HEMATOLOGICOS ESTANDAR DE RATA (Rattus novergicus) CEPA WISTAR, DEL INSTITUTO DE FISILOGIA CELULAR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

### T E S I S

Que para obtener el Título de:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P r e s e n t a:

TITO LIVIO GARCIA PONCE

Asesores: M.V.Z. ROSA MARIA GORDILLO MATA  
M.V.Z. MARIA LUISA ORDOÑEZ BADILLO



México, D. F.

1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	7
DISCUSION.....	11
LITERATURA CITADA.....	14

## RESUMEN

GARCIA PONCE, TITO LIVIO. Valores hematológicos estándar de rata (Rattus norvegicus) cepa Wistar, del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México (bajo la dirección de: Rosa María Gordillo Mata y de María Luisa Ordoñez Badillo).

Con la intención de conocer los valores hematológicos estándar de hematocrito, proteínas plasmáticas, fibrinógeno, hemoglobina, cuenta diferencial leucocitaria, cuenta de eritrocitos y leucocitos, en ratas cepa Wistar, se realizaron 200 biometrías hemáticas con los métodos establecidos por O. W. Schalm. Siendo 100 machos de 300 gramos y 100 hembras de 250 gramos ( $\pm 5$  gramos), de tres meses de edad clínicamente sanos. La investigación se llevó a cabo porque el bioterio no cuenta con parámetros hemáticos de los animales de laboratorio que ahí se producen, teniendo en cuenta que el medio ambiente y las características propias de los animales influyen en estos valores, como los obtenidos por Ringler y Cameron. Los parámetros eritrocíticos, leucocíticos, plasmáticos y la cuenta diferencial leucocitaria encontrada fueron menores a los señalados en la literatura, aunque el valor de los eritrocitos se encuentra dentro de los estándares establecidos. Se encontró que las ratas machos presentan valores hemáticos más elevados que las hembras en estudio, menos en el hematocrito que en las hembras fue mayor. Los cambios sanguíneos pueden deberse a factores tales como: el medio ambiente en donde se cría el animal, cepa, edad y sexo. Las diferencias estadísticas permiten sugerir que los bioterios que mantienen y producen animales de laboratorio deben de obtener sus propios parámetros hemáticos.

## INTRODUCCION

Con el fin de tener una fácil disponibilidad de animales de laboratorio con características homogéneas de cepa, peso, sexo, entre otras, para su uso en los proyectos de investigación, se han creado los bioterios para -- mantener colonias de producción que cuentan con un medio ambiente controlado (6, 11, 15).

Las ratas como animales de laboratorio tienen un papel importante dentro de las investigaciones que se realizan en las diferentes áreas de la ciencia biológica, principalmente la biomédica (1, 4, 9).

Al ser un animal adaptado para su utilización como modelo en los problemas biomédicos de cirugía experimental, estudios farmacológicos y de trasplante, así como en otros campos de la investigación, tendrá la caracterfstica de aportar datos que ayuden al entendimiento e interpretación correcta del problema planteado (2, 17, 20).

A estos animales se les realizan análisis clínicos como: la química sanguínea, el general de orina y biometría hemática, que dan a conocer al investigador el estado de salud del animal y de las posibles variables que pueden influir en los estudios a realizar (3, 10, 12).

Ringler y Dabich citados por Hafez (13), obtuyeron parámetros hematológicos en ratas cepa Cr1:CD(SD)BR de 16 semanas de edad, siendo los valores - de los eritrocitos de  $8.27 \times 10^6 / \text{mm}^3$ , hematocrito de 40.5 %, hemoglobina de 16 g/dl, leucocitos de  $14.9 \times 10^3 / \text{mm}^3$ , fibrinógeno de 335 mg/dl, neutrófilos de 13.9 %, linfocitos de 82.8 %, monocitos de 2.5 %, eosinófilos de 0.8 %, basófilos de 0 y proteínas plasmáticas de 8.6 g/dl.

Según lo comunicado por Cameron y colaboradores citados por Schalm (18),-

el número de eritrocitos varía entre 5.5 y  $10 \times 10^6 / \text{mm}^3$ , la cantidad de eritrocitos aumentó con la edad aproximadamente de 5.15 millones durante el primer mes de vida en ambos sexos, a  $8.5 \pm 0.5$  millones en machos y de  $7.5 \pm 0.5$  millones en hembras, a los seis meses de edad.

En muestras de sangre extraída por punción cardiaca de rata cepa Sprague - Dawley de 4-6 meses de edad, bajo anestesia con éter, estos mismos autores encontraron los siguientes parámetros hematológicos: hematocrito de 48.1 %, eritrocitos de  $8.53 \times 10^6 / \text{mm}^3$ , hemoglobina de 15.3 g/dl, proteínas plasmáticas de 7.37 g/dl, fibrinógeno de 380 mg/dl, leucocitos totales de 11 983, - linfocitos de 9 231, neutrófilos de 2 445, monocitos de 181, eosinófilos de 109 y basófilos de 17 (18).

Los valores determinados por Ringler y Dabich citados por Hafez (13) de la cuenta diferencial leucocitaria en porcentaje (%), se convirtieron a números absolutos para tener los datos en la misma escala numérica a los resultados de Cameron, estos valores son: neutrófilos de 2 071, linfocitos de - 12 337.2, monocitos de 372.5, eosinófilos de 0; de los 14 000 leucocitos - totales/ $\text{mm}^3$ .

Considerando que la hematología tiene mucho que ofrecer en el ayance de la investigación biomédica, para decidir la conveniencia o no de efectuar proyectos adicionales y más específicos que obtengan resultados significativos en las diferentes áreas mencionadas anteriormente (14, 16, 19), se propone un estudio de los valores hematológicos estándar de las ratas cepa -- Wistar, que se usan como modelos experimentales en el Instituto de Fisiología Celular, ya que la información con que actualmente se cuenta sobre la biometría hemática de rata (Rattus norvegicus) proviene de Estados Unidos de Norteamérica (18) y de Inglaterra (7) y es conveniente que cada bioterio tenga sus parámetros de referencia ya que se han encontrado diferencias hemáticas con relación a: especie, edad, medio ambiente, alimentación,

altura sobre el nivel del mar, así como la cepa del animal, por ejemplo: la diferencia entre los 14 900 leucocitos obtenidos por Ringler (7, 13) y los 11 983 leucocitos citados por Schalm (18), se debe a la cepa, edad y los lugares que donde se realizó la investigación son diferentes.

## HIPOTESIS

Las condiciones ambientales, la cepa, edad, y sexo de la rata son variables que afectan directamente los valores hemáticos estándar, por lo tanto los valores que se obtengan en rata cepa Wistar del Instituto de Fisiología Celular, deberán ser diferentes a los determinados por Ringler (7, 13) y los mencionados por Schalm (18).

## OBJETIVOS

Determinar los valores hematológicos estándar de hematocrito, proteínas plasmáticas, fibrinógeno, hemoglobina, cuenta diferencial leucocitaria, cuenta de eritrocitos y leucocitos, en rata (Rattus norvegicus) cepa Wistar, en machos y hembras del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. Así como el de observar diferencias con los valores hemáticos de la literatura citada.



## MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se empleó una colonia de 200 ratas (Rattus norvegicus) cepa Wistar, de tres meses de edad, distribuidas en dos lotes de 100 machos de 300 gramos y 100 hembras de 250 gramos ( $\pm$  5 gramos) cada uno, clínicamente sanos. El tamaño de la muestra se definió teniendo en cuenta la capacidad de producción instalada en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Para obtener la muestra de sangre los animales se anestesiaron con éter sulfúrico al 5 % en una cámara hermética y se extrajo 3 ml de sangre del corazón en jeringas con una solución de EDTA (sal disódica del ácido etilendiaminotetracético) a una dosis de 1 mg/ml (18).

Las muestras se analizaron en forma inmediata en el laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de acuerdo con los métodos hematológicos señalados por O. W. Schalm (18), los cuales son: para la determinación del hematocrito el método de microhematocrito, para la hemoglobina el de cianometahemoglobina, para proteínas plasmáticas por el refractómetro de Golberg, para fibrinógeno el de Schalm, para la cuenta de eritrocitos y leucocitos se utilizó la pipeta de Thoma y la cámara de Neubauer y por último se procedió hacer el conteo diferencial leucocitario en el frotis sanguíneo teñido con colorante de Wright.

Los valores hematológicos estándar se determinaron de acuerdo con los métodos estadísticos de análisis simple que consta de media ( $\bar{X}$ ), varianza ( $S^2$ ) y la desviación estándar (S) (8).

## RESULTADOS

Mediante los métodos y técnicas empleadas para la determinación de los valores hemáticos, se obtuvieron los siguientes datos estadísticos.

CUADRO 1

Parámetros eritrocíticos y leucocíticos de las ratas cepa Wistar, de peso y sexo diferente.

No. de ratas	Sexo	Edad	Peso (g)	Parámetro	Eritrocitos ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	Leucocitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )
100	Machos	3 meses	300	$\bar{X}$	7.4	9.2
				$S^2$	1 407.0	4 192.0
				S	1.1	2.4
100	Hembras	3 meses	250	$\bar{X}$	6.3	8.7
				$S^2$	1 708.0	5 938.0
				S	1.3	2.4

Los valores de los eritrocitos se encontraron dentro de los rangos determinados en el extranjero. No así en los leucocitos cuyos valores fueron inferiores. Observándose que en los machos hay un incremento en los valores con respecto a las hembras que se muestrearon, ver el cuadro 4 estos datos con los de la referencia.

CUADRO. 2

Valores de hematocrito: (Ht), hemoglobina (Hm), proteínas plasmáticas (P.P.) y fibrinógeno por (mm<sup>3</sup>) de las ratas cepa Wistar de peso y sexo diferente.

No. de ratas	Sexo	Edad	Peso (g)	Parámetro	Ht (%)	Hm (g/dl)	P.P. (g/dl)	Fibrinógeno (mg/dl)
100	Machos	3 meses	300	$\bar{X}$	39.28	12.59	5.90	225.64
				$+ 5$	30.86	2.76	0.11	27 385.95
				S	5.55	1.66	0.33	165.49
100	Hembras	3 meses	250	$\bar{X}$	40.50	12.99	7.30	289.41
				$+ 5$	33.86	4.38	0.49	34 767.51
				S	5.82	2.09	0.70	186.46

El cuadro expone los valores de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas y fibrinógeno obtenidos en esta investigación, estos valores fueron menores que los indicados en la literatura citada. - Se observa también, que las hembras en estudio presentan valores más elevados, con respecto a los machos. Ver en el cuadro 4 estos datos con los de la referencia.

CUADRO 3  
 Número diferencial de leucocitos/mm<sup>3</sup> en ratas cepa Wistar de peso y sexo diferentes.

No. de ratas	Sexo	Peso (g)	Edad	Parámetro.	Linfocitos	Neutrófilos segmentados	Monocitos	Eosinófilos	Bandas
100	Machos	300 + 5	3 meses	$\bar{X}$	6 445.74	2 439.42	153.34	161.67	138.68
				$S^2$	2 597 270.33	1 340 353.62	6 450.80	5 008.80	4 089.29
				S	1 611.60	1 157.74	80.32	70.77	63.95
100	Hembras	250 + 5	3 meses	$\bar{X}$	6 425.26	2 150.72	146.99	112.54	113.45
				$S^2$	4 206 196.95	1 750 780.18	6 514.98	3 176.60	5 502.89
				S	2 050.90	1 323.17	80.72	56.34	78.18

En este cuadro se observa una linfopenia tanto en machos como en hembras, con respecto a lo notificado en la literatura citada. Mientras que en las demás células los valores caen dentro de los parámetros de la información obtenida, como se puede ver en el cuadro 4.

ESTA TESIS NO DEBE  
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 4

Valores de las biometrías hemáticas de ratas, realizadas por Ringler y Dabich, Cameron y las obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la U.N.A.M.

Investigadores	Rigler y Dabich	Cameron	Bioterio IFC-UNAM	
			Wistar Machos	Wistar Hembras
Cepa	Cr1:CD(SD)BR	Sprague-Dawley	Wistar	Wistar
Sexo	Machos	Machos	Machos	Hembras
Edad	4 meses	4-6 meses	3 meses	
Eritrocitos $\times 10^6/\text{mm}^3$	8.27	8.53	7.4	6.3
Leucocitos $\times 10^3/\text{mm}^3$	14.9	11.98	9.2	8.7
Hematocrito %	40.5	48.1	39.28	40.50
Hemoglobina g/dl	16.6	15.3	12.59	12.99
Proteínas plasmáticas g/dl	8.6	7.37	5.90	7.30
Fibrinógeno mg/dl	335	380	225.64	289.41
Linfocitos ( $/\text{mm}^3$ )	8 280	9 231	6 455.74	6 425.26
Neutrófilos	1 390	2 445	2 439.42	2 150.72
Monocitos	250	181	153.34	146.99
Eosinófilos	80	109	161.67	112.54
Bandas	--	--	138.68	113.45

## DISCUSION

Los resultados del presente trabajo demuestran diferencias hemáticas entre las ratas machos citados en la literatura y los machos muestreados, así como diferencias sanguíneas entre los machos y las hembras muestreadas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular.

En los datos eritrocíticos del cuadro 1, no se encontró una diferencia con los 8.5 millones de eritrocitos de Ringler y los 8.2 millones de eritrocitos de Cameron, porque el intervalo de confianza de la media fué de  $7.4 \pm 1.1$  millones en machos y de 6.3 millones en hembras.

Los valores de los leucocitos del cuadro 1, son menores a los obtenidos -- por Ringler de 14 900 y los 11 983 de Cameron, ya que el intervalo de confianza para estas células fué de  $9.2 \pm 2.04$  mil en machos y de  $8.7 \pm 2.4$  mil en hembras, esto puede ser debido al tipo de cepa empleada.

Los machos muestreados presentan un mayor número de eritrocitos y de leucocitos que las hembras, por que el factor del sexo puede estar influyendo directamente en ellos.

En lo que respecta a los parámetros de hematocrito, hemoglobina, proteínas plasmáticas y fibrinógeno del cuadro 3, las ratas del bioterio muestran -- una disminución en los valores, con relación a los obtenidos por Ringler y Cameron. Las hembras muestreadas presentaron un intervalo de confianza en los valores plasmáticos más elevado, que el de los machos. Esto quizá se deba a que exista una mayor proporción de reticulocitos que son células -- más grandes y esto eleva el valor hematocrito.

En la cuenta diferencial leucocitaria del cuadro 3, los machos y las hembras tienen un intervalo de confianza semejante entre sí. La cuenta linfo-

citaria presenta un intervalo de confianza de  $6.4 \pm 1.6$  mil en machos y de  $6.4 \pm 2.0$  mil en hembras, menor a los 9 231 linfocitos de Ringler y a los 12 337 linfocitos de Cameron. Con las demás células de la cuenta diferencial, no se presenta una diferencia significativa. La linfopenia observada posiblemente sea normal, ya que la cuenta total de leucocitos se encontró baja.

Al ser los primeros resultados hemáticos estándar que se obtienen en el bioterio, de un lote de ratas adultas, se considera que se pueden realizar más investigaciones con el fin de determinar los valores de una biometría hemática en las diferentes etapas del desarrollo de estos animales, para que -- los valores obtenidos puedan ser empleados como referencia en las investigaciones biomédicas que los requieran.

## CONCLUSIONES

En las ratas del Instituto de Fisiología Celular, no se encontró una diferencia en el número de eritrocitos, pero sí una menor cantidad de leucocitos, con una disminución en los valores de hematocrito, hemoglobina, prote  
ínas plasmáticas, fibrinógeno y una cuenta diferencial leucocitaria menor, a los valores hemáticos citados (7, 13, 18).

Las diferencias encontradas en las constantes hematológicas entre las ratas machos estudiadas por Ringler y Cameron respectivamente y los machos del -- Instituto, con las diferencias encontradas en los machos y las hembras mues  
treadas, demuestra que factores ambientales, la cepa, edad, sexo y facto-- res genéticos de las ratas influyen en la estandarización de los valores he  
máticos.

Los datos estadísticos obtenidos permiten sugerir que en los bioterios donde se mantienen y producen colonias de animales de laboratorio, deben de ob  
tener sus propios parámetros hemáticos.



## LITERATURA CITADA

- 1.- Aluja, A. S. DE : Posibles alternativas a la experimentación con animales. Veterinaria México, 12:159-163 (1981).
- 2.- Archer, R. K. : Haematology of conventionally-maintained Lac: Poutbred Wistar rats during the 1st year of life. Laboratory Animal 16:198-200 (1982).
- 3.- Baker, J. Henry. : Haematology and Clinical Biochemistry. The Laboratory Rat 1:105-119 (1979).
- 4.- Colling, R. George. : Manual para técnicos en animales de laboratorio. Organización Panamericana de la Salud. B. A. Argentina, (1974).
- 5.- Conalty, M. L. : Husbandry of Laboratory Animal. Great Britain. Academic Press, (1967).
- 6.- Cuba, C. Alberto. : Manual de Patología de animales de Laboratorio. -- Organización Panamericana de la Salud. B. A. Argentina, (1982).
- 7.- Daniel, H. Ringler and Lyubica Dabich. : Biology and Diseases. The Laboratory Rat. Academic Press, (1979).
- 8.- Daniel, W. : Bioestadística. 3a. Reimpresión. Limusa. México, (1982).
- 9.- Departamento de Fisiología y Farmacología. Manual de animales de Laboratorio. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M., México (1983).
- 10.- Donald, V. C. : Institute of Laboratory Animal Resources. Ilar News - 19:120-123, (1979).
- 11.- Graham, C. L. Davey. : Animal Models of Human Behavior. Wiley and Sons. London, Great Britain. (1983).
- 12.- Gómez Martínez, Antonatiu. : Cuenta eritocítica en Ratas (Rattus norvergicus) en la Ciudad de México. Tesis Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M., (1985).
- 13.- Hafez, E.S. : Reproduction and Breeding Technique for Laboratory Animal, Lea & Febiger. Philadelphia, U.S.A. , (1970).
- 14.- James, G. Fox. : Laboratory Animal Medicine. Academic Press. U.S.A., - (1984).

- 15.- Lane, W. Petter. : The Laboratory Animal. Principles and Practice. -- London. Academic Press. (1971).
- 16.- Lovell, D. F. and Archer, R. K. : Variation in Haematological Parameter among Inbred Strains of Rat. Laboratory Animal 15:243-249, (1981).
- 17.- Merck Sharp and Dohme Research Laboratoires: El manual Merck de Veterinaria. 2a. ed. Merck and Co., Inc., New Jersey, U.S.A., (1981).
- 18.- Schalm, O. W. : Hematología Veterinaria. 1a. ed. en español. Hemisferio Sur. Argentina, (1981).
- 19.- Stevens, Christine. : Experiments on animal in the United States Information report animal Welfare Inst. Washington, D. C. 27:1, (1978).
- 20.- William. L. Gay. : Methods of Animal Experimentation. Academic Press-- 1:167-195, (1965).