



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“DETERMINACIÓN DE NIVELES DE LINFOCITOS CD4+, CD8+ Y
OTROS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN CABALLOS DE LA
RAZA AZTECA”**

**TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA:
JUAN ANTONIO ORTEGA PÉREZ**

**ASESOR (A):
M.V.Z. ANA MARÍA RÍOS MENA.**

**COASESOR:
DR. ANDRÉS ROMERO ROJAS**

2005

m.340574



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 esta 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.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



ESTADO LIBRE Y SOBERANO
DE QUERÉTARO
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES
ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Determinación de niveles de linfocitos CD4+, CD8+ y otros parámetros inmunológicos en caballos de Raza Azteca".

que presenta el pasante: Juan Antonio Ortega Pérez
con número de cuenta: 9041712-0 para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de abril de 2004

PRESIDENTE MVZ. Eugenio Bravo Quintanar

VOCAL Dr. Andrés Romero Rojas

SECRETARIO MVZ. Tiziano Santos Morán

PRIMER SUPLENTE MVZ. Ana M. Hernández Villalobos

SEGUNDO SUPLENTE M.C. Hugo Ramírez Alvarez

GRACIAS

Dios por permitirme llegar hasta aquí y le pido que continúe a mi lado guiándome para alcanzar mis metas.

A mis padres por haberme educado de la forma que lo hicieron, por el apoyo y confianza que me han brindado.

A mis hermanos por todo su apoyo paciencia y ayuda en los momentos que los he necesitado.

A mis tíos (Justy, Elena, y Raymundo) por su confianza e impulso que me han brindado

A mis compañeros de la carrera por que a cada uno me dejaron compartir parte de sus vidas y aprendí de ellos (Fernando, Eliuth, Victor hugo, Aidee, Oscar.)

A Vania que me apoyo y animo durante los duros momentos de la carrera.

A cada uno de mis profesores por compartir parte de sus conocimientos.

A Dr. Ramon y Dra. Ana por su apoyo y ejemplo.

A el Dr. Andrés por su apoyo y paciencia.

A la Dra. Cevallos por brindarme su confianza y abrir las puertas para que se realizara este trabajo.

A Don Antonio Ariza por permitirme realizar este trabajo en las instalaciones de su rancho San Antonio.

A Don Rodrigo Valle por permitirme realizar este trabajo en las instalaciones de su rancho El Orreo.

A todas las personas que de alguna forma estuvieron involucrados en la realización de este trabajo.

GRACIAS Diana por.....

Pase tiempo recordando todo lo que te tengo que agradecer y no he terminado tampoco tengo palabras para hacerlo, porque es tanto que no se ni como empezar solo puedo decirte GRACIAS por existir y compartir todo esto GRACIAS.

I. RESUMEN

Debido a la importancia que tiene el caballo en México y la reciente creación de la Raza Azteca, es necesario estudiar las condiciones normales de estos caballos, de la misma manera que se ha hecho con otras razas. Por esto surge la inquietud de obtener los niveles inmunológicos de caballos Aztecas; estos equinos en la historia clínica y a la exploración general se encontraron sanos, por lo que los resultados se consideran parámetros normales.

Se tomó sangre periférica de la vena yugular, y cada muestra fue procesada en laboratorio para su conservación, una porción de cada muestra se empleó para la aplicación de anticuerpos monoclonales contra: CD2, CD4, CD5, CD8, CMH II e IgM que son marcadores inmunológicos. Esto permitió que al ser leídos en un citómetro de flujo, se obtuvieran los niveles de cada una de estas poblaciones.

La otra parte de las muestras se utilizó para realizar lecturas de valores hematológicos por medio de citometría y de esta forma obtener también estos parámetros.

El fin de este trabajo es proporcionar una fuente de consulta para aquellos involucrados en el área y que ante algún caso clínico en caballos de ésta raza puedan comparar y evaluar el estado inmunológico, evolución o recuperación de su paciente y contar con un elemento más para su diagnóstico.

Í N D I C E

| | | |
|------|------------------------|---|
| I. | Resumen | 2 |
| II. | Índice..... | 3 |
| III. | Lista de figuras | 6 |
| IV. | Lista de cuadros..... | 7 |
| V. | Introducción..... | 8 |

Capítulo 1 El Caballo

| | | |
|---------|--|----|
| 1.1 | Historia del caballo..... | 10 |
| 1.1.1 | Origen y evolución del caballo..... | 10 |
| 1.1.2 | Domesticación del caballo..... | 13 |
| 1.1.2.1 | Caballo salvaje de Asia..... | 13 |
| 1.1.2.2 | Caballo salvaje de Europa..... | 14 |
| 1.1.2.3 | Caballo Tarpán..... | 14 |
| 1.1.2.4 | Caballo de América..... | 14 |
| 1.2 | Caballo de Raza Azteca..... | 17 |
| 1.2.1 | Historia..... | 17 |
| 1.2.2 | Razas antecesoras del caballo Azteca..... | 18 |
| 1.2.2.1 | Raza Andaluz..... | 18 |
| 1.2.2.2 | Raza Cuarto de Milla..... | 20 |
| 1.2.3 | Asociación Mexicana de Criadores de Caballo de Raza Azteca (AMMCRA)..... | 22 |
| 1.2.4 | Características del Caballo de Raza Azteca..... | 25 |

Capítulo 2 El Sistema Inmune

| | | |
|-------|---------------------------|----|
| 2.1 | Inmunidad innata..... | 28 |
| 2.2 | Inmunidad adquirida..... | 28 |
| 2.2.1 | Inmunidad celular..... | 29 |
| 2.2.2 | Inmunidad humoral..... | 29 |
| 2.3 | Linfocitos..... | 30 |
| 2.3.1 | Origen y desarrollo..... | 30 |
| 2.3.2 | Fuente de linfocitos..... | 30 |

| | |
|--|----|
| 2.3.3 Órganos linfoides..... | 30 |
| 2.3.4 Órganos linfoides secundarios..... | 31 |
| 2.4 Maduración o diferenciación de los linfocitos..... | 31 |
| 2.5 Tipos de linfocitos..... | 33 |
| 2.6 Función de los diferentes linfocitos..... | 34 |
| 2.6.1 Linfocitos T..... | 34 |
| 2.6.2 Linfocitos B..... | 36 |
| 2.7 Receptores para antígeno de los linfocitos..... | 36 |
| 2.8 Complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)..... | 37 |
| 2.8.1 Definición..... | 37 |
| 2.8.2 Tipos de CMH..... | 38 |
| 2.8.3 Función..... | 38 |

Capítulo 3 Citometría de flujo

| | |
|-------------------------------------|----|
| 3.1 Origen..... | 40 |
| 3.2 Funciones del citómetro..... | 42 |
| 3.3 Aplicaciones del citómetro..... | 43 |

Capítulo 4 Hematología

| | |
|---|----|
| 4.1 Importancia de la determinación de los parámetros..... | 44 |
| 4.2 Parámetros hematológicos en el caballo..... | 45 |
| 4.3 Alteraciones de los parámetros hematológicos en el caballo..... | 45 |
| 4.3.1. Neutrofilia..... | 45 |
| 4.3.2. Neutropenia..... | 46 |
| 4.3.3. Linfocitosis..... | 46 |
| 4.3.4. Linfopenia..... | 46 |
| 4.3.5. Monocitosis..... | 46 |
| 4.3.6. Eosinofilia..... | 47 |
| 4.3.7. Eosinopenia..... | 47 |
| 4.3.8. Basofilia..... | 47 |

Capítulo 5 Justificación 48

Capítulo 6 Hipótesis..... 49

| | |
|---|-----------|
| Capítulo 7 Objetivos | |
| 7.1 Objetivos generales..... | 50 |
| 7.2 Objetivos particulares..... | 50 |
| | |
| Capítulo 8 Material y Métodos | |
| 8.1 Animales..... | 51 |
| 8.2 Material de laboratorio..... | 51 |
| 8.3 Reactivos..... | 52 |
| 8.4 Equipo..... | 52 |
| 8.5 Obtención de muestras..... | 53 |
| 8.6 Procesamiento de muestras..... | 53 |
| | |
| Capítulo 9 Resultados | |
| 9.1 Características de los animales utilizados..... | 56 |
| 9.2 Valores hematológicos del caballo Azteca..... | 61 |
| | |
| Capítulo 10 Discusión..... | 71 |
| | |
| Capítulo 11 Conclusiones..... | 77 |
| | |
| Glosario..... | 79 |
| | |
| Abreviaturas..... | 82 |
| | |
| Referencias Bibliográficas..... | 83 |

II. LISTA DE FIGURAS

| | | |
|---------|--|----|
| Fig. 1 | <i>Eohippus</i> también llamado <i>Hyracoterium</i> , primer equino que apareció hace cincuenta millones de años..... | 10 |
| Fig. 2 | <i>Mesohippus</i> , el casco comienza a delinearse..... | 11 |
| Fig. 3 | <i>Merychippus</i> , equino sin dedos laterales..... | 11 |
| Fig. 4 | <i>Pleshippus</i> , antecesor de cebras, asnos y caballos..... | 12 |
| Fig. 5 | <i>Pliohippus</i> , quien habitó las grandes planicies de Norteamérica..... | 12 |
| Fig. 6 | Caballos desembarcados en el segundo viaje de Cristóbal Colón al Nuevo Mundo..... | 15 |
| Fig. 7 | Ejemplar de Raza Andaluz..... | 19 |
| Fig. 8 | Caballo Cuarto de Milla..... | 21 |
| Fig. 9 | Comunicado a la Dirección General de Ganadería de la A.M.C.R.A. para el Sistema de Registro y Certificación Genealógica..... | 24 |
| Fig. 10 | Certificado de Registro Genealógico..... | 24 |
| Fig. 11 | Reseña del Certificado..... | 25 |
| Fig. 12 | Conformación del Caballo Azteca..... | 26 |
| Fig. 13 | Prototipo del Caballo Azteca..... | 26 |
| Fig. 14 | Linfocitos T y B observados por microscopía electrónica..... | 34 |
| Fig. 15 | Receptores de Linfocitos T (TCR)..... | 36 |
| Fig. 16 | Receptores de Linfocitos B (Inmunoglobulinas)..... | 37 |
| Fig. 17 | Descripción gráfica de la lectura de una muestra sanguínea realizada por citometría de flujo..... | 41 |
| Fig. 18 | Centrifuga, hielera, gradillas, tubos de ensaye, micropipetas, agitador..... | 51 |
| Fig. 19 | Acercamiento de micropipetas con puntillas, camisa para vacutainer, aguja vacutainer..... | 52 |
| Fig. 20 | Punción en vena yugular para obtención de la muestra..... | 53 |
| Fig. 21 | Aplicación del primer monoclonal..... | 54 |
| Fig. 22 | Proceso de centrifugación..... | 54 |
| Fig. 23 | Decantación del sobrenadante de la muestra centrifugada..... | 55 |

III. LISTA DE CUADROS

| | | |
|------------------|---|----|
| Cuadro 1 | Algunas moléculas de diferenciación (CD) de las células linfoides humanas..... | 33 |
| Cuadro 2 | Parámetros hematológicos en el caballo..... | 45 |
| Cuadro 3 | Valores hematológicos de machos de 3 a 9 años de edad..... | 57 |
| Cuadro 4 | Valores hematológicos de machos de 10 a 16 años de edad y promedio general de machos..... | 58 |
| Cuadro 5 | Valores hematológicos de hembras de 3 a 5 años de edad..... | 59 |
| Cuadro 6 | Valores hematológicos de hembras de 10 a 16 años de edad y promedio general de hembras..... | 60 |
| Cuadro 7 | Promedio de valores hematológicos de machos de 3 a 9 años de edad..... | 61 |
| Cuadro 8 | Promedio de valores hematológicos de hembras de 3 a 5 años de edad..... | 61 |
| Cuadro 9 | Promedio de valores hematológicos de machos de 10 a 16 años de edad..... | 62 |
| Cuadro 10 | Promedio de valores hematológicos de hembras de 10 a 16 años de edad..... | 62 |
| Cuadro 11 | Resultados obtenidos en el conteo de marcadores..... | 63 |
| Cuadro 12 | Porcentaje de CD2+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 64 |
| Cuadro 13 | Porcentaje de CD2+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 64 |
| Cuadro 14 | Porcentaje de CD4+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 65 |
| Cuadro 15 | Porcentaje de CD4+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 65 |
| Cuadro 16 | Porcentaje de CD5+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 66 |
| Cuadro 17 | Porcentaje de CD5+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 66 |
| Cuadro 18 | Porcentaje de CD8+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 67 |
| Cuadro 19 | Porcentaje de CD8+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 67 |
| Cuadro 20 | Porcentaje de MHC II en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 68 |
| Cuadro 21 | Porcentaje de MHC II en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 68 |
| Cuadro 22 | Porcentaje de IgM en hembras y machos de 3 a 9 años de edad..... | 69 |
| Cuadro 23 | Porcentaje de IgM en hembras y machos de 10 a 16 años de edad..... | 69 |
| Cuadro 24 | Datos de promedios..... | 70 |
| Cuadro 25 | Promedio de porcentajes de cada marcador en hembras y machos..... | 70 |

V. INTRODUCCIÓN

El caballo tiene una historia de aproximadamente cincuenta a sesenta millones de años y existen investigaciones que han demostrado su presencia en América; los cambios en el planeta involucran su extinción en el ahora Continente Americano y la migración de algunos por el estrecho de Bering hacia Europa, posteriormente el caballo regresa nuevamente a América, con los conquistadores españoles y así el país después de la conquista toma al caballo como propio, ya que al escaparse algunos caballos traídos por los españoles, el pueblo mexicano los doma, utilizándolos para el trabajo del campo y su transporte, ocupando desde ese momento un lugar muy importante en la nueva cultura del mestizaje.^{4,1A}

Con el paso de los años, nació la afición en México por estos animales, desarrollada en diferentes disciplinas: salto, carreras de velocidad, polo, adiestramiento, charrería, rejoneo, cabalgatas, trabajo de campo, alta escuela y paseo entre otros; motivo que provocó, hace un cuarto de siglo a un hombre, quien a través de la Casa Pedro Domecq y un grupo de aficionados al caballo, a iniciar la búsqueda para México de un ejemplar con características propias; un caballo que permitiera a la charrería seguir su desarrollo; esa idea se llevó a cabo y el resultado es el actual caballo de Raza Azteca.^{4,1A}

Pero la faena para constituir una nueva raza es intensa e involucra gran responsabilidad para cumplir con los requisitos propios de este proceso ante las instituciones pertinentes; la labor fue cubierta y la raza es ya reconocida oficialmente (Fig. 9); sin embargo, como todo proyecto, éste pretende cimentarse aún más y ahora el sistema inmune del caballo será una herramienta que intervenga en este camino de fortalecimiento.^{4,1A}

Y así se tiene que, la inmunología es la ciencia que estudia las diferentes formas mediante las cuales el cuerpo se defiende de agentes infecciosos y otras sustancias extrañas en su ambiente, ésta cubre muchas líneas de defensa, incluso barreras físicas como la piel, sustancias químicas protectoras de la sangre y en los líquidos tisulares, y en las reacciones fisiológicas de los tejidos a la lesión o a

infecciones, pero con mucho las estrategias de defensa más elaboradas, dinámicas y eficaces se realizan por células que han evolucionado adquiriendo capacidades especializadas para reconocer y eliminar sustancias en potencia perjudiciales. Algunas de estas células defensoras circulan de manera continua por todo el cuerpo en busca de invasores extraños, otras son centinelas estacionadas a la espera, en tejidos sólidos o en superficies corporales; debido a funciones centrales que desempeñan a la defensa del huésped, estas células son uno de los objetivos principales de la inmunología.^{8, 29}

La inmunología del caballo se comenzó a estudiar hace mucho tiempo. Los primeros antisueros utilizados para el tratamiento y prevención de enfermedades en los humanos eran antisueros hiperinmunes equinos, por lo que hay conocimiento de la existencia de la IgG e IgM desde 1939 y un año después se identificó una proteína llamada T, además de la importancia en el estudio de las inmunoglobulinas en equinos dada la alta prevalencia de trastornos relacionados con la falla en la transferencia pasiva, todo esto, da motivo al presente trabajo.^{8,29}

CAPÍTULO 1

EL CABALLO

1.1 Historia del Caballo

1.1.1. Origen y evolución del caballo

Cincuenta millones de años separan al primer ejemplar equino, que se hermana con el caballo actual. En América del Norte y Europa se han encontrado restos de este animal, un ejemplar pequeño parecido a los actuales caninos o caprinos en estatura y forma. La ciencia ha bautizado a este ejemplar como *Hyracotherium* (mejor conocido como *Eohippus* o “caballo temprano”) y correspondió a uno de los más reconocidos paleontólogos en el mundo, Othniel Charles Marsh, reconstruir esta importante cadena evolutiva.^{4,20,23}

En sus estudios, Marsh estableció cinco mutaciones en constante evolución y concluyó que ésta especie contó con gran inteligencia que le permitió adaptarse a los cambios que fueron sucediendo en el planeta.^{4,20,23}

En esta evolución se observa primeramente al *Hyracotherium*, apareció hace 50 millones de años y permaneció en el planeta al menos 10 millones, período en que registró cambios continuos; su grupa era más elevada que el cuello, y sus extremidades terminaban en cuatro dedos.^{4,20,23}



Fig. 1 *Eohippus* también llamado *Hyracotherium*, primer equino que apareció hace 50 millones de años.

Siguió el *Mesohippus*, cuya estancia en la tierra se prolonga 15 millones de años; ejemplar muy parecido al pony, casi 50 cm de altura, los dedos laterales aparecen en proceso de atrofia y comienza a delinearse el casco.^{4,23}

Fig. 2 Reproducción de una imagen que muestra al *Mesohippus*, donde se observa que el casco comienza a delinearse.



Más tarde apareció el *Merychippus*, que dobló en estatura a su antecesor, es decir su altura era semejante al actual pony Shetland (102 a 107 cm) y su predominio duró 10 millones de años, los dedos laterales finalmente desaparecieron.^{4,23}

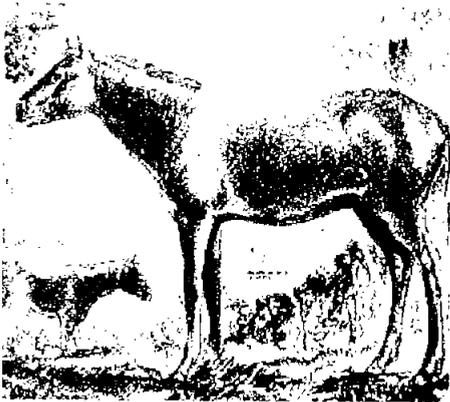


Fig. 3 *Merychippus*, equino sin dedos laterales.

Hace un millón de años aparece el *Plesihippus*, su altura promedio alcanzó un metro con cuarenta centímetros; de aspecto parecido al de la cebrá actual, excepto por el pelaje, ésta especie es considerada el antecedente de cebras, asnos y caballos.^{4,23}

Fig. 4 *Pleshippus*, antecesor de cebras, asnos y caballos.



El *Pliohippus*, es otro antepasado del herbívoro solípedo llamado *Equus caballus*, su talla era semejante a la de un venado y su zona de desarrollo fue Norteamérica.^{4,23}



Fig. 5 *Pliohippus*, quien habitó las grandes planicies de Norteamérica.

Restos fósiles han demostrado que miembros de la familia del caballo habitaron planicies de América (especialmente las ahora grandes planicies de E.U.A.), durante la mayor parte de la era terciaria, comenzando aproximadamente hace unos 58 millones de años; sin embargo los caballos no estaban presentes en éste continente cuando Cristóbal Colón descubrió América en 1492. El por qué perecieron unos cientos de años antes, es uno de los misterios inexplicados de la evolución; como la desaparición fue completa y repentina muchos científicos creen que esto debió haber sido causado por alguna enfermedad contagiosa o algún parásito fatal, otros creen que fue debido a cambios climáticos, competencia y/o fallas para adaptarse. Pero pese a su desaparición, es sabido que las condiciones en América fueron favorables para ellos en el tiempo de su reestablecimiento por los conquistadores españoles hace menos de 500 años.^{4,20,23}

Aún cuando los caballos perecieron en el Nuevo Mundo, algunos tuvieron una larga migración hacia Europa y Asia, en el tiempo en que había un puente que conectaba Alaska con Siberia (estrecho de Bering), esos emigrantes formaron la fuerte estirpe europea de la que ahora desciende la familia de los caballos y pobló África con sus asnos y cebras.^{4,23}

1.1.2 Domesticación del caballo

La evolución permite la presencia del caballo y aunque su origen y domesticación siguen siendo oscuros, el temprano uso de los caballos transformó los viajes, guerras, economía, cultura y organización social.⁴

Existen reportes del historiador griego Herodoto junto con registros del Siglo VII a. de C., y descubrimientos arqueológicos efectuados en 1991, que ubican la primera domesticación y uso del caballo por los nómadas de Asia Central en el año 4000 a. de C., en las estepas de Ucrania.^{20,23}

Entre esa evolución, origen y domesticación, lo que sí es evidente es la increíble diversidad de crías, colores, alzadas y constituciones corporales, dejando clara una descendencia común, un ancestro salvaje o probablemente muchos diferentes progenitores salvajes, que dan paso a los caballos domésticos como:

1.1.2.1 Caballo salvaje de Asia

Evidencia histórica indica que éste grupo de caballos originó la mayoría de las crías formadas ligeras y esbeltas de los tiempos modernos; Caballos Árabes, Bárbaros y Turcos son todos descendientes de estos animales; y a su vez, el Puro Sangre se originó de éstos progenitores.²⁰

1.1.2.2 Caballo salvaje de Europa

El caballo negro salvaje de los Flanders, animal fornido de mayor tamaño que el tipo oriental; fue nativo del Oeste de Europa, que engendró a las crías modernas de tiro; sin embargo, no todos los caballos salvajes de Europa fueron grandes, hubo nativos del norte de Europa fuertes y robustos que son estimados como progenitores del Pony Shetland.²⁰

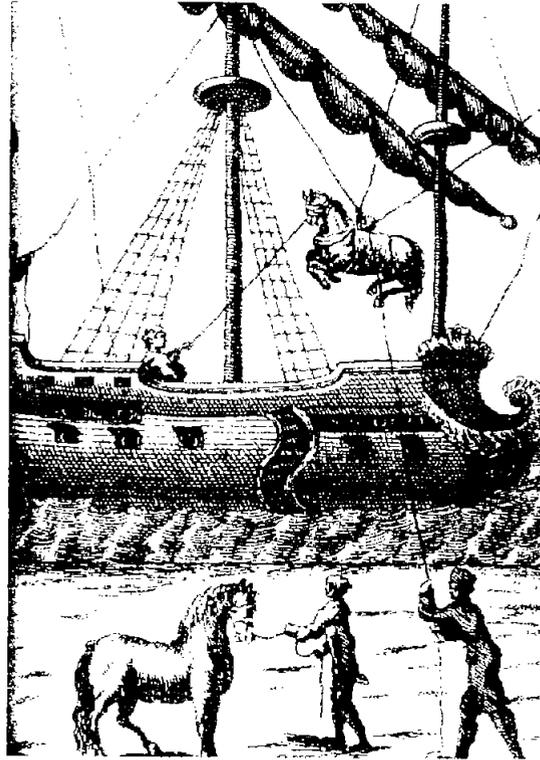
1.1.2.3 Caballo Tarpán.

Aunque desapareció en forma silvestre, fue abundante en el sur de Rusia y Asia Central. El último Tarpán puro murió en el Zoológico de Rusia en 1909; afortunadamente la historia del Tarpán no terminó, naturalistas y zoólogos recrearon Tarpanes reagrupando su material genético y crías, volviéndolos a la existencia, creándose la Asociación de Registros Genealógicos del Tarpán en 1971.²⁰

1.1.2.4 Caballo de América.

Debido a su extinción en la época prehistórica, Cristóbal Colón descubrió una América sin caballos, por lo que en su segundo viaje embarcó hacia Santo Domingo un selecto grupo de reproductores; una combinación de caballos Berberiscos y Andaluces poseedores de una extraordinaria resistencia a condiciones adversas; con el paso de los años fueron adaptándose a las muy particulares condiciones de las regiones en donde les tocó habitar, adoptando características propias que sumadas a un paciente trabajo de selección y mejoramiento durante siglos, dieron como resultado las actuales razas conocidas en el nuevo continente.^{4,23}

Fig. 6 Caballos desembarcados en el segundo viaje de Cristóbal Colón al Nuevo Mundo.



Estas razas se reafirman en el país y dan pie al caballo criollo de México. Este se mantuvo por mucho tiempo semejante al tipo Andaluz antiguo, pero con el tiempo, aun cuando algunos conservan rasgos del caballo que les dio origen, se han transformado debido a las condiciones de vida, adaptación al medio, malos cuidados, mala alimentación y sobre todo falta de atención en su reproducción, crianza y mala selección. Estos caballos han adquirido particularidades que los distinguen entre sí, según la región en la que han sido criados, pero denotan en general su origen común; por ejemplo los criados en el norte del país son de mayor alzada y volumen, mientras que los del centro tienen alzada y proporciones medias y son los que conservan mejores características de sus antepasados.^{4,20,23}

Estos caballos criollos mexicanos han sufrido degeneraciones sumamente marcadas, teniendo tallas y proporciones que no recuerdan en nada su origen; pues se han cruzado en forma totalmente irracional y a pesar de esto es posible encontrar animales bien proporcionados y de buena alzada, debido a selección y cuidados convenientes durante su producción y crianza. Debe considerarse que estos caballos criollos poseen en general cualidades dignas de ser tomadas en cuenta como: vigor, agilidad, rusticidad y nobleza.¹²

Así tras un recorrer por el tiempo los caballos son agrupados en grandes familias de razas; la mayoría son resultados de siglos de cría y cruza que buscaban intencionalmente un determinado fin, aunque también existen razas semisalvajes que se han desarrollado de forma espontánea y natural.⁴

La distribución geográfica de éstas razas estuvo en un principio influenciada por las condiciones ambientales, pero la intervención del hombre ha modificado esa situación; en algunas zonas las razas desaparecieron mientras que en otras introdujeron nuevas. Otra contribución del hombre ha sido significativa en el cruce entre las especies, cada raza se diferencia de la otra por diversas características; los Pura Sangre, por ejemplo, son conocidos por su punta de velocidad, los caballos de tiro Holandeses por su fortaleza, los Árabes por su gracia, belleza y resistencia y los Hannoverianos por sus aptitudes deportivas.^{14,12}

Y nuevamente se tiene entonces ese interés del hombre por constituir las razas acordes a sus países y cultura, y aún cuando ya se tenía una línea en el País, surge gente interesada en crear un prototipo de México y para México dando los primeros pasos hacia una nueva raza llamada "Azteca".⁴

1.2 Caballo de Raza Azteca

1.2.1 Historia

En 1978, año en que surge la idea de crear una raza para México, la mayor parte de la ganadería equina mexicana estaba formada por ejemplares de raza Cuarto de Milla, seguida por Pura Sangre Inglés, Árabes, Españoles y Lusitanos; también había Lipizanos, Percherones, Appaloosas y unos pocos descendientes del antiguo caballo criollo, deteriorados ya por la pérdida paulatina de sus cualidades genéticas; éstos eran descendiente directos de Andaluces que llegaron a México con Hernán Cortés y que durante la colonia fueron importados en grandes cantidades y reproducidos en México, para orgullo de ganaderos nacionales. Pero durante la revolución se vieron terriblemente mermados: sementales, yeguas y potrillos.⁴

Cuando volvió la paz a México se reanudaron las tareas campiranas, resurgieron la charrería y otras actividades deportivas de carácter ecuestre. Para practicarlas hubo que traer caballos de donde fuera y así la ganadería equina comenzó a poblarse de Cuartos de Milla de Estados Unidos, parecidos en cierta forma a los caballos criollos por su genealogía de caballo mexicano y yegua inglesa.⁴

Es entonces cuando se le ocurrió la idea a un hombre de reconstruir los caballos criollos, creando una raza genuinamente mexicana, con las mismas características que tuvieron aquellos y que los hicieron famosos en las justas charras y en los rodeos texanos; pero mejorándolos mediante una inteligente estructuración de cruzas controladas por expertos zootecnistas, que comenzaron por seleccionar a progenitores entre los ejemplares que destacaban por sus virtudes. Para madres se escogieron yeguas Cuarto de Milla de reconocida utilidad en suertes charras y características de fineza, lealtad, disciplina y resistencia ampliamente probadas; para padres se tomaron Andaluces legítimos, que en

diversos ensayos practicados en diferentes estados de la República habían dado magníficos resultados como sementales, al punto de que el señor Delfin Sánchez Juárez (descendiente de Benito Juárez), pidió al señor Ariza denominar al producto de ésta cruce Caballo de Raza Azteca; así nació el nombre de ésta nueva raza equina.⁴

El proyecto fue acogido con entusiasmo por ganaderos poseedores de yeguas Cuarto de Milla, aceptando cruzarlas solamente con caballos andaluces de pura cepa para obtener el mayor número de potrillos de la raza en formación.⁴

1.2.2 Razas antecesoras del caballo Azteca

Así, la historia y características de las razas que dieron origen a la Raza Azteca son las siguientes:

1.2.2.1 Raza Andaluz

España pudo ser una de las pocas zonas en las que el caballo sobrevivió durante la última glaciación; existen pinturas rupestres en grutas españolas hechas por hombres del neolítico que representan caballos. El pony Soriano pudiera ser el ancestro primitivo del Andaluz, todavía existe en Portugal y es utilizado en regiones montañosas como caballo de trabajo lo que le ha permitido sobrevivir hasta nuestro días.¹⁴

Los ponis originales de la Península Ibérica fueron cruzados hace siglos con caballos que trajeron del norte de Vándalos, el nombre original de la región era Vandalucía que se transformó en Andalucía; estos caballos fueron cruzados con caballos Árabes durante el dominio árabe en el sur de España. La raza ha sido cuidada desde el siglo XV a partir del cual fue considerado el mejor caballo de guerra del mundo e influenció en la formación de otras razas europeas y del Nuevo Mundo.¹⁴

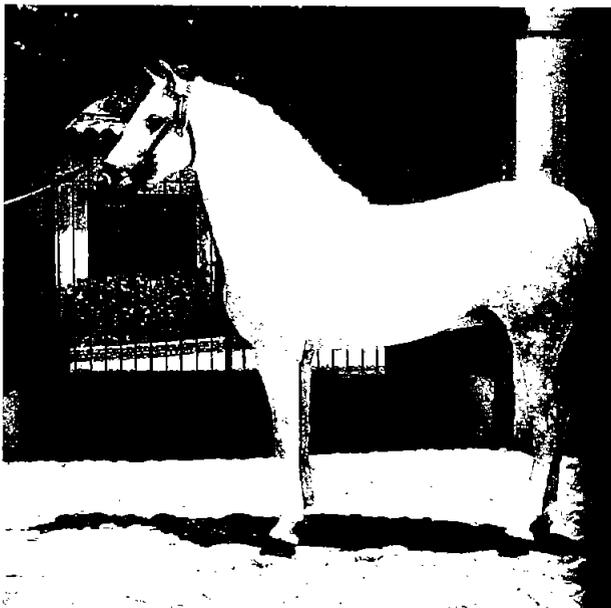


Fig. 7 Ejemplar de Raza Andaluz.

- Origen: España: Andalucía, provincia de Cádiz y Sevilla.
- Altura: 1.52 – 1.54 m.
- Color: tordillo, castaño y negro.
- Carácter: dócil, gentil, orgulloso, inteligente y rebosa energía. Este caballo disfruta trabajando y aprende con rapidez.
- Apariencia: animal elegante, la larga cabeza termina frecuentemente en una nariz redondeada, ojos grandes, crines exuberantes, orejas pequeñas y hombros musculosos pero bajos y redondos, así como el lomo. La cola situada en un punto bajo, miembros de longitud media, perfilados pero fuertes, crines y cola formadas por pelo sedoso.
- Aplicaciones: de monta ligera y excelente raza de doma. Ennoblecido por cruza con pura sangre o angloárabes, da como resultado un excelente animal para concurso hípico.
- Acción: desarrolla movimientos erguidos con pasos cortos e iguales y acción de rodilla típicamente elevada.¹⁴

1.2.2.2 Raza Cuarto de Milla

Se dice que la historia del caballo Cuarto de Milla comienza con los caballos ibéricos que formaban la totalidad de la ganadería caballar del Reino de la Nueva España, llegan hasta las lejanas provincias de California, Arizona, Nuevo México y Texas, que eran territorio mexicano. Algunos caballos escapan y al escaparse a su nuevo hábitat, sufren una serie de cambios físicos para poder subsistir.^{4,14}

Aquellas manadas de caballos españoles nacidos en México, vivieron en libertad y recorriendo amplias llanuras del oeste americano, fueron capturadas por los primeros granjeros venidos de Europa a Estados Unidos, domesticadas y cruzadas con los caballos traídos por ellos del viejo continente, la mayoría de Pura Raza Inglesa. De esa mezcla nació un caballo que con el tiempo fue adquiriendo características diferentes a las de sus progenitores: la consanguinidad de cruza se tradujo en ejemplares más bajos de alzada (1.52 m); su estructura ósea sufrió cambios importantes como los cascos para poder subir y bajar en lugares rocosos y colinas escarpadas, ya que la geografía del norte de México es caprichosa; la crin y la cola se hicieron menos abundantes.^{4,14}

Estos caballos fueron utilizados para el transporte y labores del campo, convirtiéndose en herramienta importante para el trabajo y diversión; como la costumbre de jugar carreras por parejas en tramos cortos ("carreras parejas"), originando el caballo Cuarto de Milla, que debe su nombre al desarrollar su velocidad máxima en esa distancia (un cuarto de milla son 400 m).⁴

Debido a la guerra entre México y Estados Unidos en 1847 (del Álamo), donde el primero perdiera la mitad de su territorio (Alta California, Arizona, Nuevo México y Texas), se propició recorrer la frontera entre ambos países hasta el Río Bravo y los habitantes de las regiones que se incorporaron a Estados Unidos adoptaron al caballo ya descrito como el de la región y mediante cruzamientos

controlados obtuvieron ejemplares de la nueva raza que se conocen mundialmente como Quarter Horses (Caballos Cuarto de Milla).^{4,14}

Las razas de caballos están clasificadas mundialmente de la siguiente manera: pequeñas, medianas y grandes; la mayoría de las razas que se utilizan actualmente en las diferentes disciplinas ecuestres pertenecen a razas medianas como la Cuarto de Milla, Árabe, Appaloosa, Inglés, Portugués, Español y Azteca, entre las más conocidas.⁴

Dentro de la raza Cuarto de Milla existen varias líneas:

De conformación Show Halter, caballos preparados para resaltar su morfología: músculos, aplomos, cabeza, en una palabra belleza y perfección del animal.¹⁴

Cortadora: caballo con facilidad para faenas de rodeo como: carreras de barriles y lazado de becerros, destacando la línea San Peppy.

Carreras: caballo con cualidades para carreras parejeras o en hipódromos.

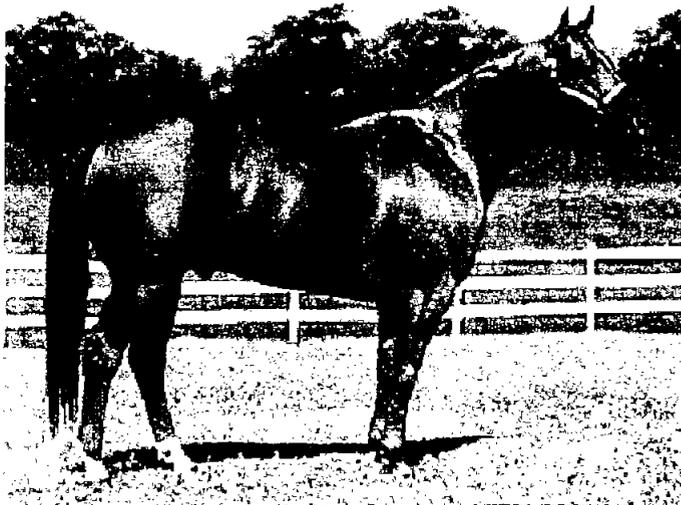


Fig. 8 Caballo Cuarto de Milla.

- Origen: Estados Unidos de América.
- Altura: 1.52 – 1.60 m.
- Color: se tolera cualquier color siempre que sea liso y uniforme.
- Carácter: en general con temperamento excelente, inteligente, tranquilo y confiable.
- Apariencia: cabeza pequeña y recta, maseteros fuertes y bien desarrollados, grupa redonda vista de lado y partida vista de frente, bien aplomado, barril cilíndrico, lomo recto, orejas pequeñas bien insertadas, ojos triangulares, ollares redondos, la cruz apenas es discernible, las piernas traseras en particular están muy musculosas.¹⁴

Definidas las inquietudes de formar una raza para México, más la relación e intervención del caballo Andaluz y Cuarto de Milla en la historia del Continente Americano, se fijan los objetivos, metas y estrategias a seguir y entonces nace una Asociación que respalda ésta idea.

1.2.3 Asociación Mexicana de Criadores de Caballo de Raza Azteca (AMCCRA)

Se organiza la Asociación Mexicana de Criadores de Caballo de Raza Azteca, lo que interesó vivamente al entonces Secretario de Agricultura y Ganadería de México, Ingeniero José Merino Rábago, quien apoyó el experimento, proporcionó un equipo de zootecnistas que visitó los diversos criaderos y estableció la tabla formal de cruzamientos en Ajuchitlancito, Querétaro.⁴

Obtenidos los productos de las primeras cruzas se inició el trabajo de mejoramiento, después de pasar numerosos exámenes zoométricos, funcionalidad, profundidad torácica, etc., entonces ante autoridades de la Secretaría de Agricultura y Ganadería el caballo de nombre: **CASAREJO** recibe el registro número **UNO** siendo el ejemplar fundador de la **Raza Azteca**, documento

histórico que se encuentra en los registros de la Secretaría de Ganadería y Agricultura de México.⁴

En 1982 el gobierno Mexicano tras comprobar la seriedad y eficacia de los cruzamientos llevados a cabo en los criaderos pertenecientes a la Asociación, le otorgó a través de la Secretaría de Agricultura y Ganadería la patente oficial número 3585-RP y se creó el libro de Registro (Stud Book), que se lleva por duplicado en la mencionada Dependencia Oficial y en la Asociación Mexicana de Criadores de Caballo de Raza Azteca.⁴

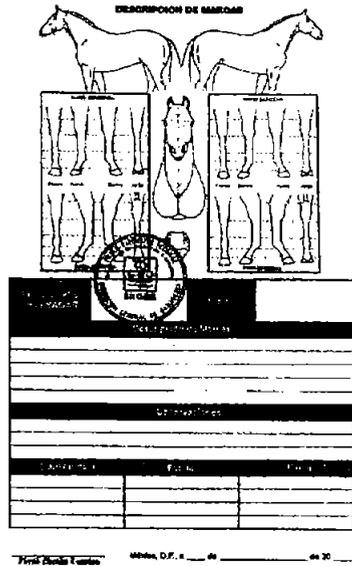
Finalmente la Asociación Mexicana de Criadores de Caballos de Raza Azteca A. C., se constituyó el 24 de septiembre de 1982, autorizando también la tabla de cruzamiento por la Secretaría de Agricultura y Ganadería, con el propósito de agremiar a todos los criadores de caballos de Raza Azteca bajo los reglamentos instituidos por la asociación con derechos y obligaciones.⁴

El 18 de Noviembre de 1994, la Secretaría de Ganadería y Agricultura publica en el Diario Oficial de la Federación la autorización del Reglamento Técnico.⁴

El 5 de mayo del año 2000, se autoriza por parte de SAGAR, el nuevo formato de registro genealógico con 7 candados de seguridad, así como el Colegio de Jueces.⁴

El año 2002, un sueño acariciado se vuelve realidad: la internacionalización de la raza, al ser invitada la Asociación a exponer sus ejemplares en la Universidad Estatal de Michigan, el foro más importante de caballos: The Horse Council; posteriormente se presenta en los Juegos Mundiales Ecuéstricos, en Jerez de la Frontera, España, el "Libro del Caballo Azteca", en el Palacio Domecq como aportación cultural de México a estos juegos.⁴

Fig. 11 Reseña del certificado.



1.2.4 Características del Caballo Azteca

La idea culminó, la Raza Azteca pasa a formar parte de los mexicanos y sus características fenotípicas generales quedan de la siguiente forma:⁴

- Cabeza: de tamaño mediano.
- Perfil: hueso fronto - nasal recto o ligeramente convexo.
- Ojos: triangulares proporcionales al tamaño de la cabeza.
- Ollares: alargados respetando el perfil de la cabeza.
- Encuentros: anchos.
- Tórax: amplio y profundo.
- Alzada: 1.52 mínimo.
- Grupa: fuerte, partida vista de frente y redonda vista de lado.
- Huesos: fuertes.
- Tren posterior: fuerte.
- Cola: inserción media o baja bien poblada, no debe elevarse con el movimiento.
- Carácter: Vivaz, resistente, ágil, dócil y equilibrado.⁵

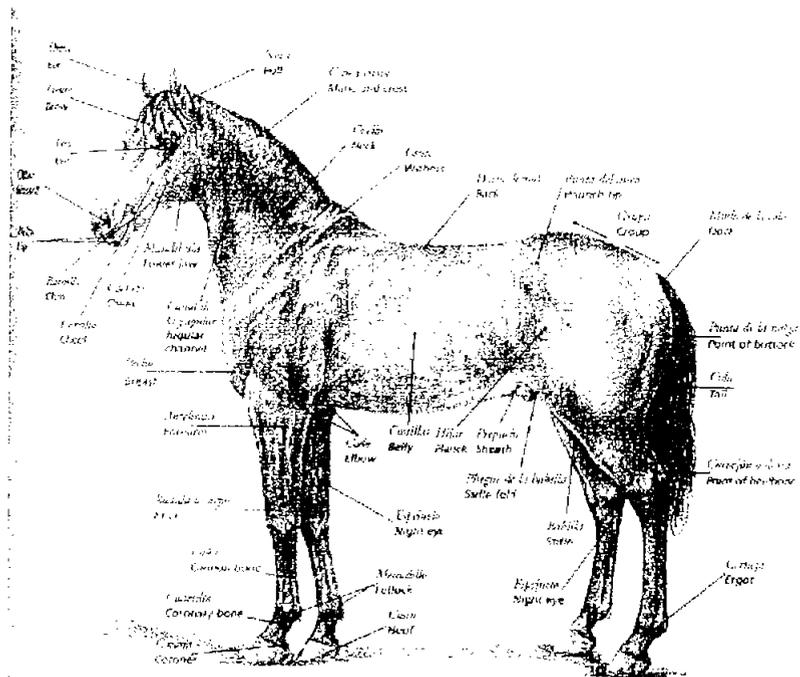


Fig. 12 Conformación del Caballo Azteca.

ASOCIACIÓN MEXICANA DE CRIADORES DE CABALLOS DE RAZA AZTECA

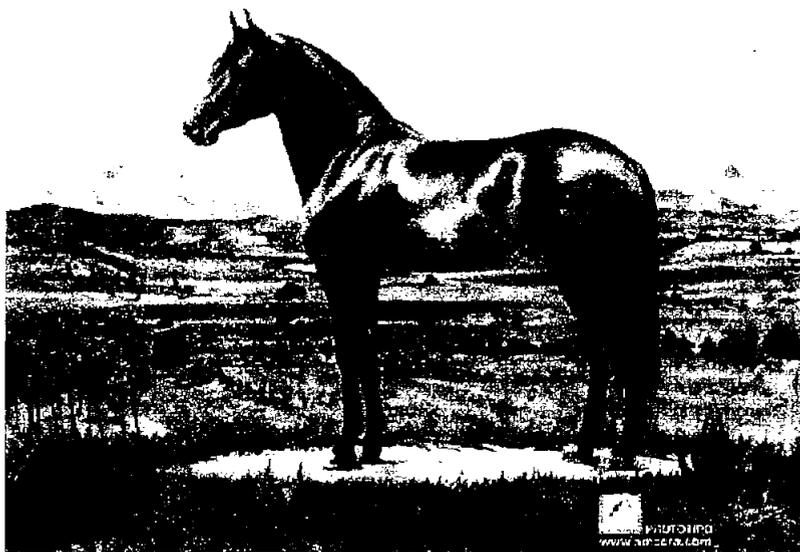


Fig. 13 Prototipo del Caballo Azteca.

La raza quedó establecida, pero todo proyecto tiende a buscar nuevas alternativas, y es así, que este trabajo pretende aportar algo más, pero ahora basado en la fisiología del caballo, al dar a conocer parámetros inmunológicos propios y que sea un punto de comparación con otras razas.

CAPÍTULO 2

EL SISTEMA INMUNE

La introducción señaló someramente lo que es la inmunología, en los siguientes capítulos se mostrará un marco más profundo encaminado a comprender el objetivo de este trabajo.

2.1 Inmunidad innata

Está constituida por mecanismos existentes antes de que se desarrolle la infección, capaces de establecer respuestas rápidas contra microorganismos y que reaccionan básicamente de la misma manera a infecciones repetidas. Los componentes principales de la inmunidad innata son:

- 1) Barreras físicas y químicas, tales como: epitelios y sustancias antimicrobianas producidas en las superficies epiteliales.
- 2) Células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y células citocidas naturales (NK).
- 3) Proteínas sanguíneas, que incluyen miembros del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación.
- 4) Proteínas denominadas *citocinas*, que regulan y coordinan muchas reacciones de las células que intervienen en la inmunidad celular.^{17,25,25}

2.2 Inmunidad adquirida

En contraposición con la inmunidad innata, existen mecanismos de defensa más evolucionados que son estimulados tras la exposición a agentes infecciosos y cuya intensidad y capacidad defensiva aumenta después de cada exposición subsiguiente a un determinado microorganismo. Debido a que esta forma de

inmunidad se desarrolla como respuesta a la infección, recibe el nombre de *inmunidad adaptativa*.^{17,25,26}

Las características definitivas de la inmunidad adaptativa son: especificidad extraordinaria a macromoléculas diferentes y capacidad para recordar y responder con mayor intensidad tras exposiciones repetidas al mismo microorganismo; debido a esta capacidad para discriminar entre diferentes microorganismos y macromoléculas, aunque estén estrechamente relacionados, la inmunidad adaptativa se denomina también *inmunidad específica* y sus componentes son las células conocidas con el nombre de "linfocitos".^{17,25,26}

Hay dos tipos de respuesta inmunitaria adaptativa: humoral y celular; están mediadas por diferentes componentes del sistema inmunitario cuya función es eliminar diversos microorganismos.^{17,25,26}

2.2.1 Inmunidad celular

También llamada inmunidad mediada por células; participan células denominadas *Linfocitos T*.

Microorganismos intracelulares, como virus y algunas bacterias, sobreviven y proliferan en el interior de los fagocitos y otras células del huésped, lugar al que no tienen acceso los anticuerpos circulantes; la defensa frente a este tipo de infecciones depende de la inmunidad celular que induce la destrucción de los microorganismos residentes en los fagocitos o de las células infectadas.^{17,25,26}

2.2.2 Inmunidad humoral

En esta participan moléculas presentes en la sangre denominadas anticuerpos, producidas por células llamadas Linfocitos B. Los anticuerpos reconocen específicamente a antígenos microbianos, neutralizan la infectividad de

éstos y dirigen su acción contra ellos para su eliminación por medio de diversos mecanismos efectores. La inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa frente a microorganismos extracelulares y sus toxinas, debido a que los anticuerpos secretados pueden unirse a éstos microorganismos y toxinas para facilitar su eliminación. Los anticuerpos pueden activar mecanismos efectores distintos.^{17,25,26}

2.3 Linfocitos

2.3.1 Origen y desarrollo

El desarrollo de la respuesta inmunitaria es en realidad una función de las células llamadas linfocitos; éstos se deben ser seleccionados de manera que los que se produzcan sean reactivos frente a antígenos extraños y no a los propios, así mismo, la magnitud de la respuesta de cada linfocito debe regularse, de manera que sea suficiente para las necesidades del organismo, por esa razón, los organismos del sistema linfoide pueden clasificarse con base en las funciones que desempeñan en la generación de linfocitos y regulación de su producción.^{17,25,26,28}

2.3.2 Fuente de linfocitos

En etapas tempranas de la vida fetal, la célula madre linfoide comienza a reproducirse en el peritoneo primitivo y después en el hígado fetal. En fetos de etapas avanzadas y en animales adultos, la médula ósea es la fuente más importante de linfocitos. De todos los tejidos del animal adulto, la médula ósea tiene una alta capacidad de suministrar todas las células necesarias para restaurar las funciones de otros órganos linfoides.^{17,25,26,28}

2.3.3 Órganos linfoides

Son aquellos cuya población celular está constituida principalmente por linfocitos. Los órganos linfoides se dividen en primarios y secundarios. Los

primarios incluyen: timo, médula ósea y placas de Peyer; su principal función es la producción (linfopoyesis) y diferenciación de linfocitos. Los secundarios incluyen: ganglios linfáticos, bazo, tonsilas, placas de Peyer y tejidos linfoides asociados con otras estructuras anatómicas.^{17,18}

2.3.4 Órganos linfoides secundarios

Sus funciones incluyen procesos de captación de Ag, proporcionar un microambiente apropiado para el desarrollo de la respuesta inmunológica, así como replicación y diferenciación de linfocitos.

Se encargan de establecer condiciones adecuadas para que la estimulación antigénica se lleve a cabo. Esto contrasta en forma evidente con los órganos linfoides primarios, que no responden normalmente a antígenos y por consiguiente, son de tamaño normal en los animales libres de microorganismos. Entre otros ejemplos de órganos linfoides secundarios están: acumulaciones linfáticas de las vías digestivas, respiratorias y urogenitales. Los órganos linfoides secundarios son ricos en macrófagos y células dendríticas, que atrapan y transforman los antígenos; así como linfocitos, que son mediadores de la respuesta inmunitaria.^{17,18}

2.4 Maduración o diferenciación de los linfocitos

Se sabe que participan diversos factores hormonales y metabolitos producidos por células de sostén de los órganos linfoides. En el timo, por ejemplo se han identificado diversos polipéptidos con actividad hormonal: timosinas, timopoyetina y factor tímico sérico. Gran variedad de células en la médula ósea y en otros órganos (monocitos-macrófagos, linfocitos, células endoteliales, células cebadas, fibroblastos y células hematopoyéticas), producen también una extensa gama de moléculas que funcionan como factores de diferenciación, maduración o proliferación de los linfocitos T y B.

Los linfocitos pre-T migran de la médula ósea al timo para completar ahí su maduración. Por influencia de las hormonas tímicas, las células T ordenan y

activan sus genes responsables de la síntesis de los receptores para antígeno (TCR) y de moléculas de diferenciación CD2, CD3, CD4 y CD8, entre muchas otras. Las moléculas CD2 permiten a las células T formar las llamadas rosetas E o rosetas directas y por esta técnica estas células pueden distinguirse de las células B. Las células que se encuentran en la corteza del timo son células inmaduras que pueden exhibir fenotipos mixtos ($CD4^+/CD8^-$ y $CD4^+/CD8^+$). En la médula del timo, las células maduras se separan en $CD4^+/CD8^-$ (cooperadoras) y $CD8^+/CD4^-$ (citotóxicas). Gran parte de los linfocitos pre-T que entran al timo mueren en el órgano debido a que son células autorreactivas; las células que no son autorreactivas sobreviven y constituyen el repertorio de células T con las que se cuenta para interactuar con los diversos antígenos del ambiente.^{17,18,25,26}

Dentro de los linfocitos B se reconocen dos subpoblaciones: B-1 y B-2.

Linfocitos B-1: se distinguen de los B-2 porque:

- a) Expresan en su membrana altos niveles de moléculas CD5 e IgM (son $CD5^+/IgM^+$).
- b) Reconoce autoantígenos (como fosfatidil colina, inmunoglobulinas y ADN) y antígenos externos sin la participación de células T.
- c) Participan de manera importante en la inmunidad innata al secretar "anticuerpos naturales" IgM, sin necesidad de inmunización previa.
- d) Se encuentran en gran número en el peritoneo (donde se supone se originan o maduran), ganglios linfáticos mesentéricos y tejido linfático asociado a mucosas del tracto digestivo. Una buena parte de las IgA encontradas en secreciones intestinales proviene de células plasmáticas derivadas de linfocitos B-1 estimulados por microorganismos de la flora intestinal.

Los linfocitos B-2 por su parte:

- a) Exhiben en su superficie moléculas IgM pero no moléculas CD5 (son $CD5^- / IgM^+$).

- b) Reconoce antígenos independientes de T.
- c) Son las células B más abundantes en órganos linfoides en general.
- d) Regulados en su función por citocinas dependientes de T.
- e) Efectúan con eficiencia el cambio de clase de los anticuerpos que producen (IgM → IgD, IgM → IgG, IgM → IgE o IgM → IgA).

2.4 Tipos de linfocitos

Las CD son moléculas de diferenciación (*cluster of differentiation molecules*), presentes en la superficie de leucocitos y otras células, que reflejan su estirpe celular, grado de diferenciación, maduración o activación. Su identificación ha sido posible gracias al uso de anticuerpos monoclonales que interaccionan con epitopos particulares de moléculas complejas. Algunas de las moléculas CD son específicas de ciertas líneas celulares, mientras que otras son compartidas por varias células; además algunas moléculas CD se expresan sólo en células activadas y a muchas de ellas se les reconoce alguna función como moléculas de reconocimiento (receptores) ligadas a mecanismos de transducción de señales.²⁸

Cuadro 1. Algunas moléculas de diferenciación (CD) de las células linfoides humanas²⁸

| Células | Moléculas |
|------------------------------|---|
| 1. Linfocitos Th | (CD2), (CD3), CD4 , (CD27), CD45RA |
| 2. Linfocitos Tc | (CD2), (CD3), CD8 , (CD27) |
| 3. Linfocitos T activados | CD2R , CD40L, CD96, CD97 |
| 4. Linfocitos Th de memoria | CD45RO (además de las señaladas en 1) |
| 5. Linfocitos B | CD19, CD20, CD40 , CD53 (C3bR), CD80, CD86 |
| 6. Linfocitos B activados | CD126 , CD130 |
| 7. Linfocitos B de memoria | CD27 (además de las señaladas en 6) |
| 8. Células NK | (CD2), CD56 |
| 9. Monocitos, macrófagos | (CD4), CD11b , CD64, CD115 |
| 10. Granulocitos neutrófilos | (CD11b) CD66a,b |
| 11. Células dendríticas | CD1a |

- Entre paréntesis se señalan moléculas compartidas por más de una línea celular; fuera del paréntesis se muestran moléculas restringidas (o casi) a células que las portan. Algunas moléculas se expresan sólo en células activadas, otras en células de memoria. Aparte de éstas hay cerca de un centenar de moléculas CD de distribución más extensa, encontradas en varias líneas celulares.

No es fácil identificar subpoblaciones de linfocitos con base en su morfología, existen varias subpoblaciones de éstas células distinguibles entre sí por los marcadores que expresan en su membrana, por moléculas que sintetizan y secretan y por su actividad biológica particular.^{25,28}

En general hay dos subpoblaciones de linfocitos, células T y células B; además de una subpoblación descrita como células "null" por no mostrar las características de las anteriores. Cada tipo con diferente especialización pero con funciones coordinadas.^{16,28}

La característica distintiva de esta división de poblaciones celulares es que las células T tienen en su superficie un antígeno receptor llamado receptor de células T (*TCR*), combinado con una molécula señaladora denominada *CD3*, mientras que las células B expresan inmunoglobulinas moleculares en su superficie y es usado directamente como antígeno receptor.^{17,18}

Hay varios tipos de *TCR*: α , β , γ y δ , los cuales son más estudiados para el desarrollo de vacunas.¹⁸

2.6 Función de los diferentes linfocitos

2.6.1 Linfocitos T

La familia de las células T está dividido en T cooperadores, que expresan *CD4* en su superficie molecular y linfocitos T citotóxicos que expresan moléculas *CD8*.¹³

Fig. 14 Linfocitos T y B observados por microscopía electrónica.



Las células T maduras tienen, hasta donde se sabe, moléculas TCR (*T cell receptor*, el receptor para antígeno de éstas células), la molécula CD3 (un complejo pentamolecular, asociado al TCR y relacionado con la transducción de señales) y la molécula CD2 (un receptor para eritrocitos de camero).^{25,26,28}

Algunas células T expresan además, la molécula CD4, otras la molécula CD8, y otras ninguna de las dos, aunque siguen siendo TCR⁺, CD3⁺. Las células TCD8⁺ y TCD4⁺ constituyen la mayoría de células T del organismo.²⁸

La mayoría de las células T CD4⁺ y CD8⁺ portan receptores TCR con cadenas alfa y beta (células T $\alpha\beta$) mientras que una minoría, usualmente CD4⁻ y CD8⁻, tienen receptores TCR con cadenas gamma y delta (células T $\gamma\delta$).^{26,28}

Dentro de las células T que son CD4⁺, existen varias subpoblaciones celulares claramente definidas en función de las moléculas (citocinas) que producen y de su actividad predominante.²⁸

Las células Th1y Th2 juegan un papel importante en la inmunidad celular y humoral, respectivamente, mientras que las células Th3 y Tr1 ejercen un papel regulador de la respuesta. Las células Th0 dan origen a las células Th1 y Th2 o derivan de ellas; hay pruebas en ambos sentidos.²⁸

También dentro de las células T CD8⁺ se han encontrado subpoblaciones, siendo las más conocidas las células T CD8⁺ de tipo 1 y T CD8⁺ de tipo 2.^{28,29}

Las células T CD8⁺ de tipo 1 tienen actividad citotóxica y por esto también se conocen como células Tc; las células T CD8⁺ de tipo 2 parecen tener un efecto regulador sobre las primeras, pero esto no está bien estudiado.²⁸

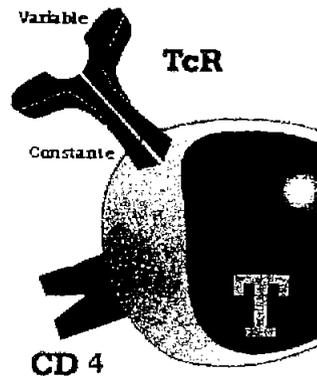
2.6.2 Linfocitos B

Dentro de los linfocitos B se han descrito dos subpoblaciones: células B-1 ($CD5^+$, IgM^+) y células B-2 ($CD5^-$, IgM^+). En las células B-2 (más abundantes y mejor conocidas) se han descrito, además, marcadores de activación que no se encuentran en las células en reposo y marcadores "exclusivos" de células B de memoria.^{17,25,28,29}

2.7 Receptores para antígeno de los linfocitos

Los linfocitos T y linfocitos B, reconocen antígenos a través de receptores superficiales de naturaleza proteica, pero mientras que los receptores de linfocitos B son moléculas preformadas de anticuerpo, los receptores de linfocitos T son moléculas diméricas conocidas como TCR (Aunque los TCR no son anticuerpos, mantienen cierta homología estructural con ellos (incluyendo regiones variables y constantes y dominios estructurales) y por eso se incluyen dentro de la superfamilia de las inmunoglobulinas.^{17,25,26,28}

Fig. 15 Receptores de Linfocitos T (TCR).



La mayoría de las células T que se encuentran en órganos linfoides y en sangre son células con receptores $\alpha\beta$ (95%); el resto tiene receptores $\gamma\delta$ (5%). Recientemente se ha propuesto que la función de las células T $\gamma\delta$ pudiera estar relacionada con el reconocimiento de moléculas de bajo peso molecular (de

menos de 1 kD), muchas de ellas fosforiladas. Algunas de estas moléculas se han identificado como componentes o como productos metabólicos de micobacterias y por esto se ha sugerido que las células T $\gamma\delta$ podrían desempeñar un papel importante en la inmunidad contra micobacterias patógenas (*Mycobacterium tuberculosis* y *M. leprae*).²⁸

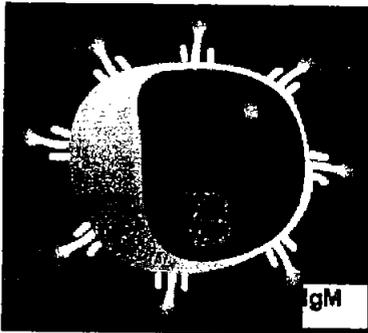


Fig. 16 Receptores de Linfocitos B (Inmunoglobulinas).

2.8 Complejo mayor de histocompatibilidad

2.8.1 Definición

Para inducir una reacción inmunitaria, la transformación del antígeno requiere no sólo de la fragmentación de sus moléculas en el interior de la célula, sino también la unión de estos fragmentos con una molécula correcta presentadora de antígeno, a la que se le llama **Molécula de Histocompatibilidad**. Son glucoproteínas receptoras especializadas, codificadas por genes que se localizan en un complejo genético; el **Complejo Mayor** (también conocido como **principal**) de **Histocompatibilidad** o **CMH** (en inglés: Major Histocompatibility Complex), por lo tanto las moléculas también se denominan moléculas del MHC ó CMH.²⁹

El CMH del caballo se denomina ALE (ELA por sus siglas en inglés) por Antígeno Linfocitario Equino. Los primeros estudios de la región ALE se realizaron a finales de los 70, en la década siguiente se identificaron 21 antígenos ALE y otros tres antígenos linfocitarios del caballo codificados por genes no ALE.¹³

2.8.2 Tipos de CMH

Cada CMH contiene tres clases de genes pero para fines de este trabajo solo se enfocarán los dos primeros. Los genes de clase I codifican moléculas de CMH que se hallan en la superficie de la mayor parte de las células nucleadas. Los genes de clase II codifican moléculas CMH, que se encuentran primordialmente en la superficie de las células presentadoras de antígeno (macrófagos células dendríticas y células B).^{13,29}

Estudios bioquímicos de antígenos del CMH de clase II con anticuerpos monoclonales han demostrado que células T en reposo de caballos, expresan antígenos de Clase II aunque a menor nivel de las células B.¹³

2.8.3 Función

Los linfocitos T no responden directamente a antígenos presentes en la superficie de un virus, en lugar de esto, ellos reconocen pequeños fragmentos de Ag procesado que están presentes en la superficie de sus células infectadas o sobre células que están especializadas para capturar Ag extraños y presentarlos en su superficie. Este último tipo de células son llamadas Presentadoras de Antígeno (APC, por sus siglas en inglés); ejemplo de estos son los macrófagos y las altamente eficientes células dendríticas. Después de procesar al antígeno, en fragmentos cortos de péptidos, éstos son presentados sobre la superficie de la célula, unidos al CMH.¹³

Los antígenos son procesados para su presentación por la forma endógena, resultando una presentación por CMH I, ó por el modo exógeno resultando la presentación por CMH II. Esto significa que los antígenos absorbidos desde fuera de la célula por fagocitosis, por ejemplo, son presentados por CMH II. Los

antígenos producidos dentro de la célula como en el caso de una infección viral son presentados por CMH I.^{13,29}

Las moléculas CD8 ó CD4 actúan como receptores para moléculas CMH y estabilizan las interacciones entre células T y antígenos presentadores o células blanco. Por lo tanto, el CD8 puede responder solamente por moléculas CMH I y los linfocitos T cooperadores (CD4) pueden responder solamente a antígenos presentados por molécula CMH II. Esto significa que el CD8 puede reconocer cualquier célula en el cuerpo que se infectó con un patógeno intracelular, y componentes expuestos de ese patógeno en la superficie celular, unido a la molécula CMHI. En contraste, los CD4 solo reconocen antígenos que presentan CMH II.¹³

El CD8 tiene un papel importante en la eliminación de la infección viral, porque ellos están adaptados para buscar y destruir células infectadas. De esta forma los antígenos muertos o inactivados en las vacunas son fagocitados por células presentadoras de antígeno y presentados por moléculas CMH II, por lo tanto, muchas vacunas convencionales tienen poca capacidad de inducir respuesta de CD8 que son esenciales para la defensa contra algunas infecciones virales.¹³

CAPÍTULO 3

DETECCIÓN DE MARCADORES CELULARES (MOLECULAS DE SUPERFICIE) POR CITOMETRÍA DE FLUJO

3.1 Origen

Las mediciones bioquímicas y biofísicas de células aisladas se han llevado a cabo durante años, sobre todo mediante análisis visuales en diferentes tipos de microscopios y se han afinado cada vez más a través del desarrollo de un nuevo tipo de instrumento denominado citómetro de flujo.^{3,11,18,30.}

El clasificador celular activado por fluorescencia (FACS, Fluorescent Activated Cell Sorter), fue desarrollado por Herzenbergs y col., para cuantificar moléculas de superficie de células individuales pertenecientes a la serie blanca; por su reacción con anticuerpos monoclonales marcados con un fluorocromo y usando las señales así formadas para separar células de fenotipo definido a partir de una mezcla heterogénea.²⁷

En este elegante pero complejo aparato se hacen fluir células fluorescentes de manera ordenada, una detrás de otra frente a un haz de láser. La determinación cuantitativa de la señal fluorescente en un tubo fotomultiplicador colocado de manera adecuada, retransmite una señal a la célula a medida que ella emerge en una gotita individual; la célula adquiere una carga eléctrica y puede separarse usando un campo eléctrico.²⁷

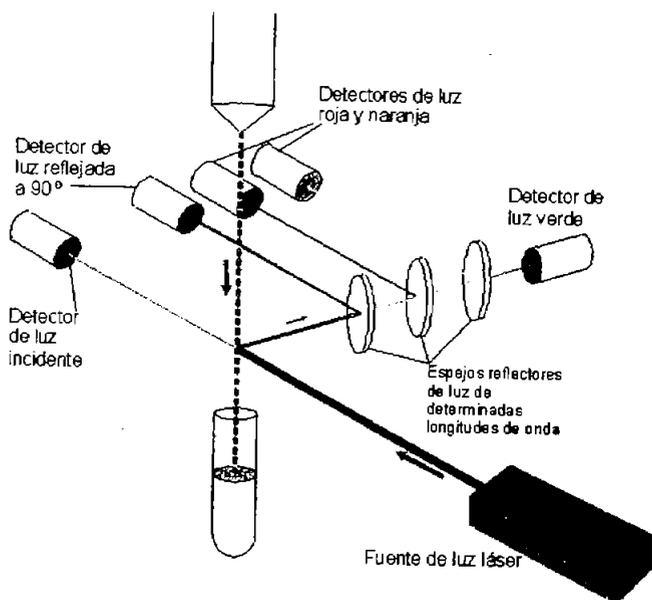


Fig. 17 Descripción gráfica de la lectura de una muestra de células realizada por citometría de flujo.

Puede introducirse mayor sofisticación por el empleo de rayos láser y fluorocromos, y una dispersión de la luz, tanto anterior, como a 90°. Esta técnica puede usarse para el análisis cuantitativo de múltiples parámetros de poblaciones celulares individuales. Estos últimos aparatos de FACS permiten el aislamiento de células con un fenotipo complejo de una población heterogénea con alto grado de discriminación.²⁷

3.2 Funciones del citómetro

Los citómetros de flujo son instrumentos que pueden analizar las propiedades de células únicas, al pasar a través de un orificio a gran velocidad con la ayuda de un rayo láser. La cuenta de células individuales en mezclas complejas es una técnica tediosa e imprecisa, incluso con anticuerpos

monoclonales fluorescentes y microscopios de alta tecnología. Actualmente, las proteínas de superficie de poblaciones linfocitarias se analizan automáticamente en gran detalle y con gran eficacia.^{3,11,18,30.}

En este aparato se bombea una suspensión de células a través de un tubo muy delgado, de manera que las células pasen a través de él en una sola fila; se dirige un haz de láser a través de la corriente de células y se miden los efectos de las células en el haz de luz. De esa manera, la dispersión anterógrada del haz de luz se puede utilizar para medir el tamaño de la célula. La dispersión de la luz hacia los lados por una célula proporciona una medida de la rugosidad de la superficie celular y la complejidad interna. Se puede utilizar una combinación de esos parámetros para identificar todas las células de una muestra de sangre.^{3,11,18}

Los antígenos de la superficie celular pueden detectarse y localizarse por el uso de anticuerpos marcados. Dado que los anticuerpos no pueden penetrar con facilidad en las células vivas, excepto por endocitosis, el tratamiento de células con anticuerpo marcado en frío (para minimizar la endocitosis) conduce a la identificación sólo de antígenos de superficie.²⁷

Es posible teñir células individuales con diversos fluorocromos y analizar las células en gotas individuales cuando fluyen a través de la sección de un **citómetro de flujo**. Estos instrumentos registran datos cuantitativos que relacionan el contenido de antígeno de la superficie y la naturaleza física de cada célula individual, con parámetros múltiples que se evalúan por célula para dar un análisis fenotípico en una única célula más que un promedio de la población. Con la impresionante cantidad de anticuerpos monoclonales y los fluorocromos disponibles, en la actualidad es posible la realización del análisis con alto grado de detalle.²⁷

3.3 Aplicaciones del citómetro

- 1) Análisis y separación de subpoblaciones de células T con anticuerpos monoclonales fluorescentes.
- 2) Separación de varias clases de células linfoides por tamaño y marcador de anticuerpos.
- 3) Separación de células vivas y muertas.
- 4) Detección de células anormales.
- 5) Detección de la velocidad de duplicación celular.
- 6) Análisis de partículas intracelulares.

CAPÍTULO 4

HEMATOLOGÍA

4.1 Importancia de la determinación de los parámetros

Los intervalos de referencia son determinados haciendo conteos celulares sanguíneos completos en una población definida (edad, sexo, estado reproductivo, actividad física y localización geográfica) de caballos clínicamente sanos.

Estos intervalos de referencia limitados permiten una detección más rápida de los animales enfermos basado en la examinación de resultados de los exámenes de laboratorio.

4.2 Parámetros hematológicos en el caballo ⁵

El cuadro 2 presenta valores normales de células sanguíneas en equinos.

| Eritrocitos | | |
|--|---------------------------|--|
| Hematocrito (%) | | 32 - 48 |
| Hemoglobina (g /dl) | | 10 - 18 |
| Conteo Eritrocitario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | | 6 - 12 |
| Reticulocitos (%) | | 0 |
| VCM (fl) | | 34 - 58 |
| HCM (pg) | | 13 - 19 |
| HCMC (g /dl) | | 31 - 37 |
| Leucocitos | | |
| Tipo de célula | Rango de distribución (%) | Rango absoluto (células/ μl) |
| Leucocitos | - | 6,000 - 12, 000 |
| Neutrófilos | | |
| Segmentados | 30 - 75 | 3,000 - 6,000 |
| Banda | 0 - 1 | 0 - 100 |
| Linfocitos | 25 - 60 | 1,500 - 5,000 |
| Monocitos | 1 - 8 | 0 -100 |
| Eosinófilos | 1 - 10 | 0 - 800 |
| Basófilos | 0 - 3 | 0 - 300 |
| Plaquetas | | |
| Conteo plaquetario ($\times 10^5/\mu\text{l}$) | | 1 - 6 |
| Volumen Medio Plaquetario | | 4.1 - 6.9 |
| Proteínas | | |
| Proteína Plasmática (Refractometría, g/ dl) | | 6.0 - 8.5 |
| Fibrinógeno (Precipitación por calor, mg/ dl) | | 100 - 500 |

Cuadro 2. Parámetros Hematológicos en el caballo.

4.3 Alteraciones de los parámetros hematológicos en el caballo

4.3.1 Neutrofilia

Causas fisiológicas: miedo, excitación y ejercicio breve pero extenuante.

Causas asociadas a corticosteroides: drogas y estrés severo.

Inflamación: varias causas.

Infección: bacteriana, viral, fúngica y parasitaria.

Leucemia granulocítica: muy rara.⁵

4.3.2 Neutropenia

Producción de neutrófilos defectuosos en médula ósea: drogas, irradiación, necrosis de médula ósea (bacteriana), mieloptisis, mielofibrosis, osteopetrosis, inflamación granulomatosa diseminada y neoplasias.

Excesiva demanda tisular de neutrófilos: septicemia/ endotoxemia (salmonelosis, septicemia en potros), infecciones bacterianas severas, perforación cecal, cólico, enteritis crónica, erliquiosis monocítica, intoxicación por fenilbutazona y neutropenia inmunomediada.⁵

4.3.3 Linfocitosis

Causas fisiológicas: especialmente en estados de estrés en algunas razas como la raza pura sangre inglés.

Infección crónica: bacteriana y viral.

Secuela postvacunación.

Linfosarcoma / Leucemia linfocítica: raro e inusual.⁵

4.3.4 Linfopenia

Asociado a corticosteroides: drogas y estrés severo.

Infecciones agudas: bacteriana y viral.

Inmunodeficiencia combinada: especialmente caballos Árabes.⁵

4.3.5 Monocitosis

Supuración y necrosis tisular.

Hemólisis y hemorragia.

Inflamación piogranulomatosa.

Neoplasia no hematopoyética.

Leucemia Monocítica / Mielomonocítica (muy raro).⁵

4.3.6 Eosinifilia

Parasitismo: agudo en potros

Reacciones inflamatorias / hipersensibilidad

Síndromes hipereosinofílicos

Enfermedad Mieloproliferativa Eosinofílica y leucemia (rara).⁵

4.3.7 Eosinopenia

Causas asociadas a corticosteroides: drogas y estrés severo.

Infección aguda (cualquier causa).⁵

4.3.8 Basofilia

Enfermedad intestinal, incluido el parasitismo.⁵

CAPÍTULO 5

JUSTIFICACIÓN

Los avances más impresionantes de la inmunología se han dado en los humanos, sin embargo la inmunología veterinaria también se ha desarrollado fuertemente en los últimos años, pero esto no ha sucedido en todas las especies animales ya que en equinos el avance ha sido insuficiente, es por esto que se requiere de incrementar el ritmo de investigación de los mecanismos de la respuesta inmune, no sólo de la especie sino en las diferentes razas que se conocen; entre las razas más importantes se encuentran: Pura Sangre Inglés, Árabe, Cuarto de Milla, entre otras.

Debido al reciente surgimiento de la raza Azteca, se desconocen los valores normales de las poblaciones celulares en la sangre de ésta raza por lo que es de suma importancia tener conocimiento de estas, ya que obteniendo los niveles normales puede saberse si existen alteraciones y por lo tanto detectar enfermedades, en ocasiones conocer su origen y con esto poder dar un diagnóstico y tratamiento acertado.

Es de gran impacto obtener los parámetros inmunológicos y hematológicos normales del caballo Azteca para su difusión, lo que brindará mejores herramientas para el monitoreo de la salud de éstos equinos, además de fortalecer y dar reconocimiento al caballo de Raza Azteca que es el único representante de México y por lo tanto, ayudará a tener mayor información a nivel nacional e internacional de esta raza.

CAPÍTULO 6

HIPÓTESIS

Se conocen los niveles de poblaciones celulares normales de otras razas de caballos, los cuales son un tanto similares entre sí, debido a esto, se espera que los niveles celulares del caballo de Raza Azteca se encuentren dentro de los mismos parámetros generales de la especie.

CAPÍTULO 7

OBJETIVOS

7.1 Objetivos generales

- 1) Evaluar el estado inmunológico de caballos adultos de Raza Azteca.
- 2) Conocer los valores hematológicos de la misma raza.

7.2 Objetivos particulares

- 1) Realizar el conteo celular hematológico de la Raza Azteca.
- 2) Determinar los niveles de marcadores celulares inmunológicamente importantes en caballos de Raza Azteca.

CAPÍTULO 8

MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Animales

Se utilizaron 21 caballos de la Raza Azteca de los cuales 10 fueron machos enteros, 1 macho castrado, 8 hembras vacías y 2 hembras que se encontraban en el segundo tercio de gestación; todos ellos se mantenían con las mismas condiciones de manejo .

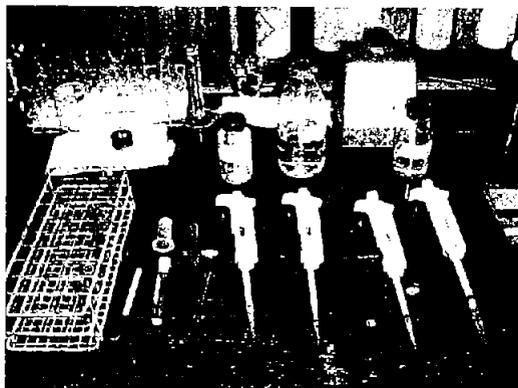
8.2 Material de laboratorio

- Tubos de ensaye
- Vacutainer
- Micropipetas
- Puntillas para micropipeta
- Tubos para citómetro
- Cubreobjetos y portaobjetos
- Alicuotas
- Congelantes
- Hielera
- Torundas con alcohol
- Gradillas



Fig. 18 Centrifuga, hielera, gradillas, tubos de ensaye, micropipetas, agitador.

Fig. 19 Acercamiento de micropipetas con puntillas, camisa para vacutainer, aguja vacutainer.



8.3 Reactivos

- Anticuerpos monoclonales
 - Anti **CD2** (clona HB88A VMRD, Inc. WA, USA).
 - Anti **CD4** (clona HB61A VMRD, Inc. WA, USA).
 - Anti **CD5** (clona HB19A VMRD, Inc. WA, USA).
 - Anti **CD8** (clona HT14A VMRD, Inc. WA, USA).
 - Anti **IgM** (clona 1.9/3.2 VMRD, Inc. WA, USA).
 - Anti **MHC II** (clona H42A VMRD, Inc. WA, USA).

Como anticuerpo secundario: anticuerpo policlonal específico contra inmunoglobulinas murinas (IgM + IgG), Catálogo 555988 (Was: 36424D) BD.

- Sangre con heparina.
- Solución de lisis.
- Solución P.B.S.

8.4 Equipo

- Citómetro de flujo.
- Microscopio óptico.
- Centrífuga.
- Agitador vortex.

- Campana extractora.

8.5 Obtención de muestras

Se tomaron muestras de sangre periférica por medio de punción con vacutainer en vena yugular, como anticoagulante se utilizó heparina. Los tubos fueron marcados con los nombres de cada uno de los caballos. Posterior a ésto se trasladaron al laboratorio en un medio refrigerado, para ser procesadas e interpretadas.



Fig. 20 Punción en vena yugular para obtención de la muestra.

8.6 Procesamiento de muestras

Se emplearon para identificar los marcadores celulares los siguientes anticuerpos monoclonales: anti **CD2** (clona HB88A VMRD, Inc. WA, USA), anti **CD4** (clona HB61A VMRD, Inc. WA, USA), anti **CD5** (clona HB19A VMRD, Inc. WA, USA), anti **CD8** (clona HT14A VMRD, Inc. WA, USA), anti **IgM** (clona 1.9/3.2 VMRD, Inc. WA, USA) y anti **MHC II** (clona H42A VMRD, Inc. WA, USA). Como anticuerpo secundario se empleó el anticuerpo policlonal específico contra inmunoglobulinas murinas (IgM + IgG), originado en cabra y conjugado con isotiocianato de fluoresceína, Catálogo 555988 (Was: 36424D) BD.

Las muestras fueron procesadas con cada uno de estos marcadores de la siguiente forma:

- En un tubo de ensaye se colocó 30 μ l de sangre y 5 μ l del anticuerpo monoclonal seleccionado.

Fig. 21 Aplicación del primer monoclonal.



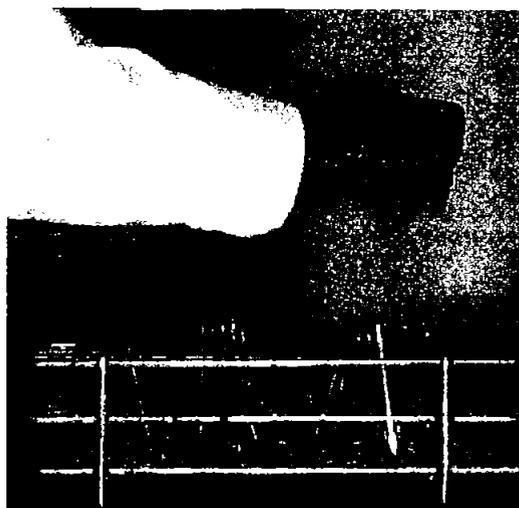
- Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- Transcurridos los 30 minutos se le agregó 200 μ l de solución de lisis y se incubó durante 10 minutos en las mismas condiciones que el proceso anterior.
- Enseguida se centrifugó a 1500 revoluciones por minuto durante 5 minutos; al terminar la centrifugación se desechó el sobrenadante.



Fig. 22 Proceso de centrifugación.

- Se resuspendieron las células agregando 1ml de solución de PBS.
- Se repitió el proceso de centrifugación y retiró el sobrenadante.
- Enseguida se le aplicó 10 μ l del anticuerpo policlonal.
- Se repitió el mismo ciclo de incubación.
- Posteriormente, se le agregó 1ml de solución de PBS.
- Se centrifugó y retiró el sobrenadante.

Fig. 23 Decantación del sobrenadante de la muestra centrifugada.



- Finalmente, se agregó 0.5ml ó 1ml de paraformaldehído para conservar las células hasta el momento de leer la muestra en el citómetro de flujo.

CAPÍTULO 9

RESULTADOS

9.1 Características de los animales utilizados

Los ranchos donde se encuentran alojados los animales utilizados para este trabajo se localizan en la zona centro del país, al noreste de la Ciudad de México. Todos estos ejemplares cuentan con las mismas condiciones de manejo y medicina preventiva; a continuación se citan algunas de éstas prácticas:

- Los machos se alojan en caballerizas y viajan constantemente debido a que participan en concursos de doma clásica y conformación.
- Se les aplican vitaminas cada mes (complejo B, Soluciones vitaminadas)
- Diariamente se ejercitan con trabajos de doma clásica.
- Se alimentan con alimento comercial, forraje de avena o alfalfa y agua a libre acceso.
- Las hembras se encuentran en libertad en pradera.
- Hembras y machos son desparasitados cada tres meses con administración de pastas cuyo principio activo es la Ivermectina.
- Vacunas: A machos y hembras se les aplica la vacuna contra el Virus de Influenza Equina cada año.

A hembras se les aplica el toxoide Tétanico y la vacuna contra la Rinoneumonitis Viral Equina.

Hematología

No se cuenta con registros escritos de los parámetros hematológicos de la Raza Azteca, por lo que se consideró importante realizar las lecturas por medio de un equipo Beckman Synchron STKS para hematología.

| Parámetros | Chinaco | Escándalo | Tlalpuente | Tenango | Texcoco | Tepalcat | Mixteco | Prom |
|--|---------|-----------|------------|---------|---------|----------|---------|-------|
| Años | 3 | 4 | 6 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| Hematocrito (%) | 40 | 40 | 45 | 43 | 47 | 43 | 43 | 43 |
| Hemoglobina (g/dl) | 15 | 17 | 13 | 17 | 12 | 15 | 12 | 14 |
| Conteo Eritrocitario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | 9 | 6 | 8 | 8 | 7 | 7 | 8 | 8 |
| Reticulocitos (%) | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VCM (fl) | 45 | 46 | 40 | 43 | 40 | 50 | 45 | 44 |
| HCM (pg) | 17 | 15 | 19 | 16 | 19 | 16 | 17 | 17 |
| HCMC (g/dl) | 35 | 32 | 33 | 35 | 37 | 35 | 34 | 34 |
| Leucocitos | 95 | 95 | 119 | 117 | 100 | 118 | 88 | 104.5 |
| Neutrófilos | 40 | 40 | 50 | 50 | 55 | 58 | 51 | 49 |
| Segmentados | 40 | 40 | 50 | 50 | 54 | 58 | 50 | 49 |
| Banda | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Linfocitos | 40 | 40 | 50 | 50 | 34 | 50 | 30 | 42 |
| Monocitos | 6 | 6 | 8 | 7 | 7 | 6 | 3 | 6 |
| Eosinófilos | 7 | 7 | 9 | 8 | 4 | 4 | 3 | 6 |
| Basófilos | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Conteo plaquetario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 2 | 1 | 3 |
| Volumen medio plaquetario | 5.2 | 5 | 5.2 | 4.2 | 5.2 | 5.7 | 6.3 | 5 |

Guadro 3 Valores hematológicos de machos de 3 a 9 años de edad (VCM: Volumen Corpuscular Medio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Media HCMC: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media).

| Parámetros | Alabel | Mazatleco | Bronce | Sinaloense | Prom. | Prom Gral. |
|---|--------|-----------|--------|------------|-------|------------|
| Años | 10 | 10 | 12 | 12 | | |
| Hematocrito (%) | 40 | 38 | 34 | 36 | 37 | 41 |
| Hemoglobina (g/dl) | 12 | 16 | 13 | 13 | 14 | 14 |
| Conteo Eritrocitario (x10 ⁶ /µl) | 12 | 7 | 8 | 7 | 9 | 8 |
| Reticulocitos (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | - | - |
| VCM (fl) | 36 | 43 | 34 | 36 | 37 | 41 |
| HCM (pg) | 17 | 14 | 16 | 18 | 16 | 17 |
| HCMC (g/dl) | 34 | 35 | 33 | 33 | 34 | 34 |
| Leucocitos | 86 | 81 | 87 | 97 | 87.5 | 98.4 |
| Neutrófilos | 35 | 33 | 44 | 43 | 39 | 46 |
| Segmentados | 35 | 33 | 44 | 43 | 39 | 46 |
| Banda | 0 | 0 | 0 | 0 | - | 0 |
| Linfocitos | 40 | 34 | 36 | 46 | 39 | 41 |
| Monocitos | 6 | 7 | 2 | 3 | 5 | 6 |
| Eosinófilos | 2 | 7 | 3 | 4 | 4 | 5 |
| Basófilos | 3 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| Conteo plaquetario (x 10 ⁵ / µl) | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| Volumen medio plaquetario | 4,7 | 5,9 | 4,5 | 4,8 | 5 | 5 |

Cuadro 4 Valores hematológicos de machos de 10 a 16 años de edad y promedio general de machos (VCM: Volumen Corpuscular Medio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Media; HCMC: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media).

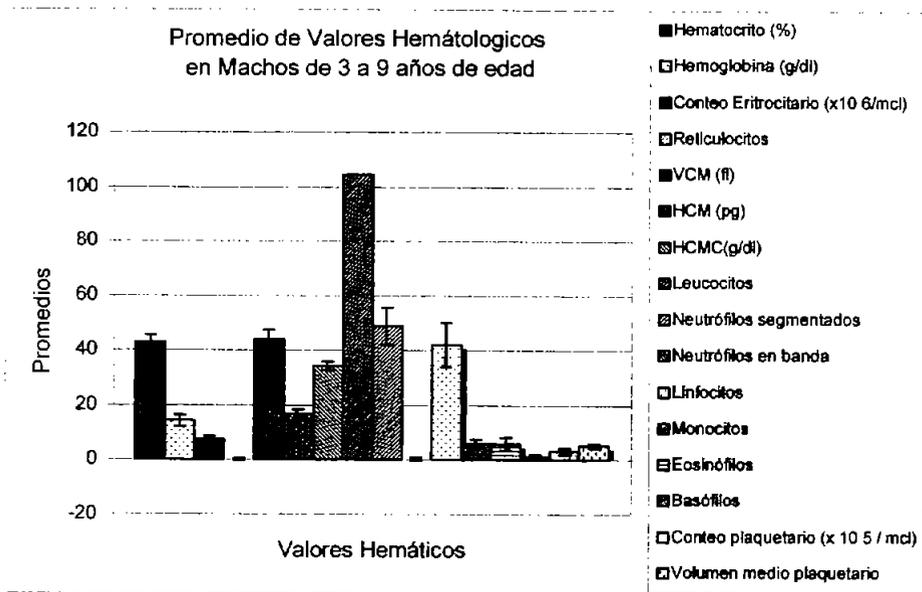
| Parámetros | Tamazula | Tamalera | Ajusquilla | Cazareja | Tayana | Prom |
|--|----------|----------|------------|----------|--------|------|
| Edad | 7 | 7 | 8 | 8 | 8 | 7,6 |
| Hematocrito (%) | 34 | 39 | 43 | 40 | 44 | 40 |
| Hemoglobina (g/dl) | 16 | 13 | 15 | 15 | 16 | 15 |
| Conteo Eritrocitario ($\times 10^6 / \mu\text{l}$) | 7 | 6 | 8 | 6 | 7 | 6,8 |
| Reticulocitos (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| VCM (fl) | 43 | 45 | 44 | 43 | 45 | 44 |
| HCM (pg) | 15 | 15 | 15 | 13 | 17 | 15 |
| HCMC (g/dl) | 35 | 34 | 32 | 33 | 35 | 33,8 |
| Leucocitos | 77 | 108 | 104 | 85 | 96 | 94 |
| Neutrófilos | 43 | 50 | 43 | 45 | 45 | 45,2 |
| Segmentados | 43 | 50 | 43 | 45 | 45 | 45,2 |
| Banda | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Linfocitos | 27 | 50 | 49 | 34 | 40 | 40 |
| Monocitos | 3 | 4 | 7 | 2 | 4 | 4 |
| Eosinófilos | 2 | 4 | 5 | 2 | 4 | 3,4 |
| Basófilos | 2 | 0 | 0 | 2 | 3 | 1,4 |
| Conteo plaquetario ($\times 10^3 / \mu\text{l}$) | 1 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1,8 |
| Volumen medio plaquetario | 4,3 | 5,2 | 5,4 | 5,7 | 5,3 | 5,18 |

Cuadro 5. Valores hematológico de hembras de 3 a 5 años de edad (VCM: Volumen Corpuscular Medio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Media; HCMC: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media).

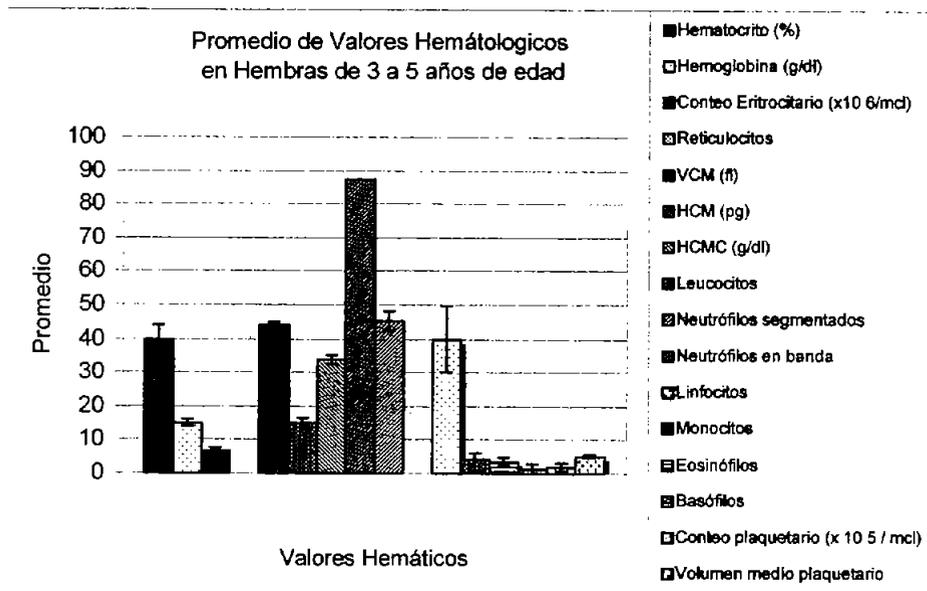
| | Janca | Queretana | Papalotla | Tezontla | Texcocoana | Prom. | Prom. Gral |
|--|-------|-----------|-----------|----------|------------|-------|------------|
| Años | 10 | 12 | 15 | 15 | 16 | | |
| Hematocrito (%) | 32 | 37 | 32 | 35 | 38 | 35 | 37 |
| Hemoglobina (g/dl) | 12 | 15 | 12 | 14 | 15 | 14 | 14 |
| Conteo Eritrocitario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | 7 | 7 | 10 | 10 | 8 | 8 | 8 |
| Reticulocitos (%) | - | - | - | - | - | - | - |
| VCM (fl) | 40 | 54 | 58 | 40 | 50 | 48 | 46 |
| HCM (pg) | 14 | 17 | 19 | 16 | 15 | 16 | 16 |
| HCMC (g/dl) | 32 | 37 | 36 | 34 | 34 | 35 | 34 |
| Leucocitos | 76 | 125 | 96 | 95 | 92 | 97 | 95.5 |
| Neutrófilos | 45 | 60 | 47 | 43 | 40 | 47 | 46 |
| Segmentados | 45 | 60 | 47 | 43 | 40 | 47 | 46 |
| Banda | - | - | - | - | - | - | - |
| Linfocitos | 26 | 57 | 43 | 45 | 40 | 42 | 41 |
| Monocitos | 2 | 4 | 2 | 3 | 5 | 3 | 4 |
| Eosinófilos | 2 | 4 | 3 | 2 | 6 | 3 | 3 |
| Basófilos | 1 | - | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Conteo plaquetario ($\times 10^5/\mu\text{l}$) | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 2 | 2 |
| Volumen medio plaquetario | 4 | 6 | 5 | 5 | 4 | 5 | 5 |

Cuadro 6. Valores hematológicos de hembras de 10 a 16 años de edad y promedio general de hembras (VCM: Volumen Corpuscular Medio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Media; HCMC: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media).

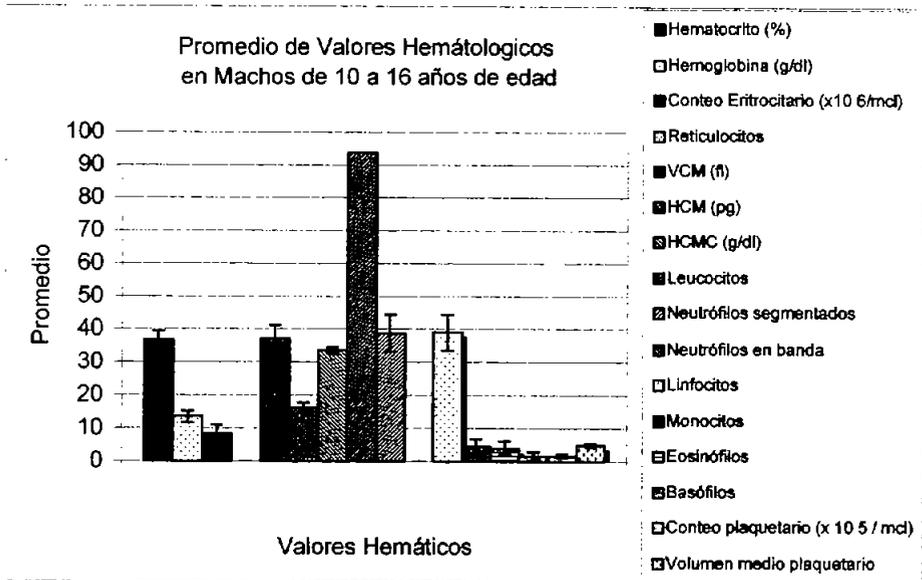
Cuadro 7 Promedio de valores hematológicos de machos de 3 a 9 años de edad



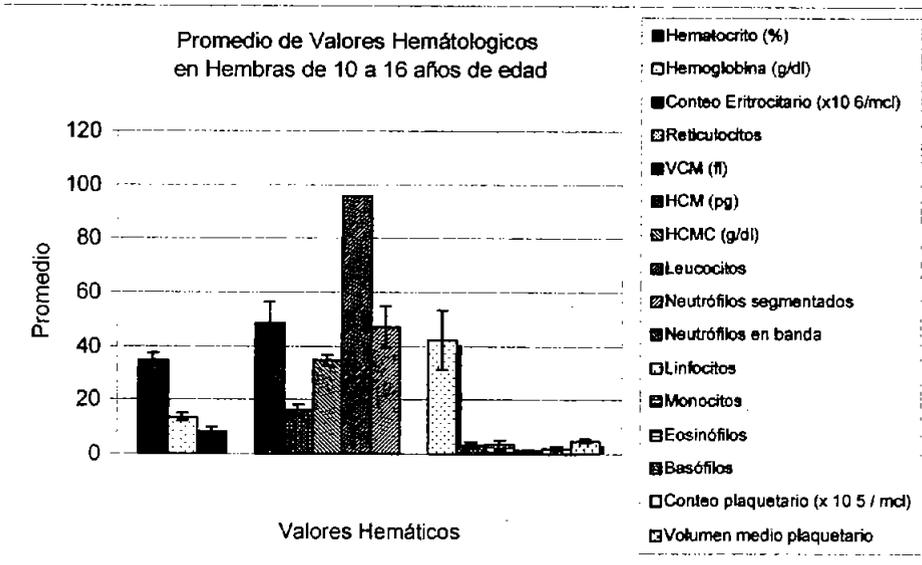
Cuadro 8 Promedio de valores hematológicos de hembras de 3 a 5 años de edad



Cuadro 9 Promedio de valores hematológicos de machos de 10 a 16 años de edad



Cuadro 10 Promedio de valores hematológicos de hembras de 10 a 16 años de edad



Cuadro 11. Resultados obtenidos en el conteo de marcadores.

| Nombre | Edad (años) | Sexo | CD2+ % | CD4+ % | CD5+ % | CD8+ % | MHC II % | IgM % |
|---------------------------|-------------|------|--------|--------|--------|--------|----------|-------|
| CHINACO | 3 | M | 72.42 | 52.79 | 63 | 12.34 | 47.62 | 3.35 |
| ESCÁNDALO | 4 | M | 76.42 | 58.62 | 0.2 | 13.84 | 35.92 | 7.26 |
| TLALPUENTE ⁽¹⁾ | 6 | M | 74.49 | 53.69 | 69.35 | 14.06 | 60.09 | 5.56 |
| TENANGO | 6 | M | 79.99 | 55.96 | 76.23 | 16.3 | 69.45 | 4.57 |
| TEXCOCO | 7 | M | 69.01 | 44.98 | 66.52 | 14.43 | 75.57 | 3.34 |
| TAMAZULA | 7 | H | 76.69 | 62.43 | 74.65 | 8.39 | 73.17 | 1.39 |
| TAMALERA ⁽⁴⁾ | 7 | H | 58.2 | 40.5 | 53.32 | 13.43 | 62.62 | 6.05 |
| TEPALCATE | 8 | M | 86.82 | 58.74 | 85.56 | 18.77 | 76.01 | 1.54 |
| AJUSQUILLA | 8 | H | 63.1 | 55.51 | 66.75 | 11.03 | 25.29 | 2.99 |
| CAZAREJA ⁽²⁾ | 8 | H | 67.72 | 50.59 | 54.77 | 11.3 | 36.81 | 2.06 |
| TAYANA ⁽⁴⁾ | 8 | H | 71.65 | 53.12 | 64.71 | 14.45 | 76.5 | 9.11 |
| MIXTECO ⁽³⁾ | 9 | M | 72.93 | 46.95 | 68.13 | 19.93 | 34.32 | 3.61 |
| ALABEL | 10 | M | 64.62 | 51.41 | 0 | 17.69 | 56.18 | 4.1 |
| MAZATLECO | 10 | M | 72.5 | 56.7 | 66.67 | 16.88 | 79.09 | 6.99 |
| JANCA | 10 | H | 64.5 | 45.89 | 57.95 | 14.33 | 53.49 | 7.18 |
| BRONCE | 12 | M | 82.43 | 55.58 | 82.01 | 26.38 | 36.12 | 5.71 |
| SINALOENSE | 12 | M | 83.78 | 57.05 | 80.19 | 23.18 | 76.51 | 4.5 |
| TEZONTLA | 12 | H | 71.27 | 55.08 | 67.53 | 11.34 | 37.57 | 1.94 |
| PAPALOTLA | 12 | H | 71.48 | 43.49 | 66.47 | 15.65 | 53.84 | 3.9 |
| QUERETANA | 15 | H | 68.47 | 56.11 | 58.96 | 10.95 | 37.61 | 2.81 |
| TEXCOCANA | 16 | H | 80.34 | 61.98 | 70.73 | 13.56 | 32.97 | 3.53 |

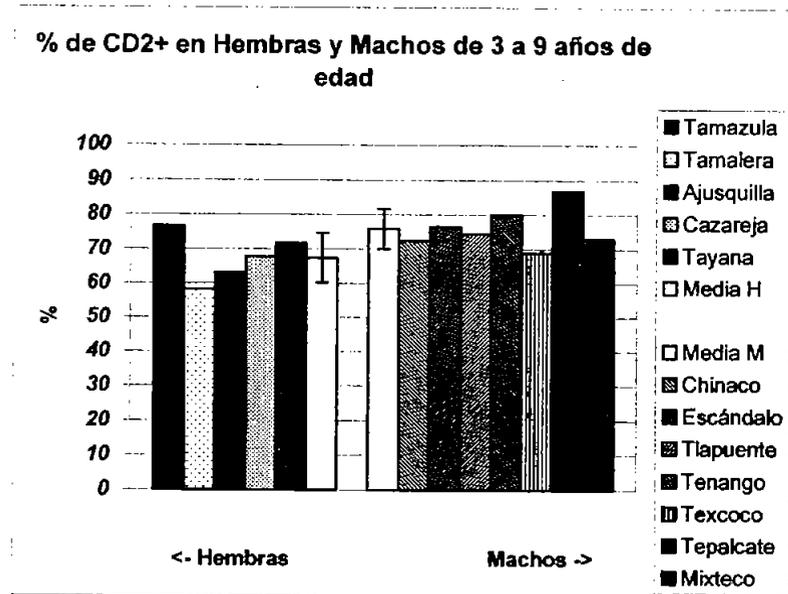
⁽¹⁾ Tlalpuente, en el momento de la toma de la muestra registró 40.0° C, que presentaba desde hacía una semana atrás.

⁽²⁾ Cazareja, cursaba una infección ocular.

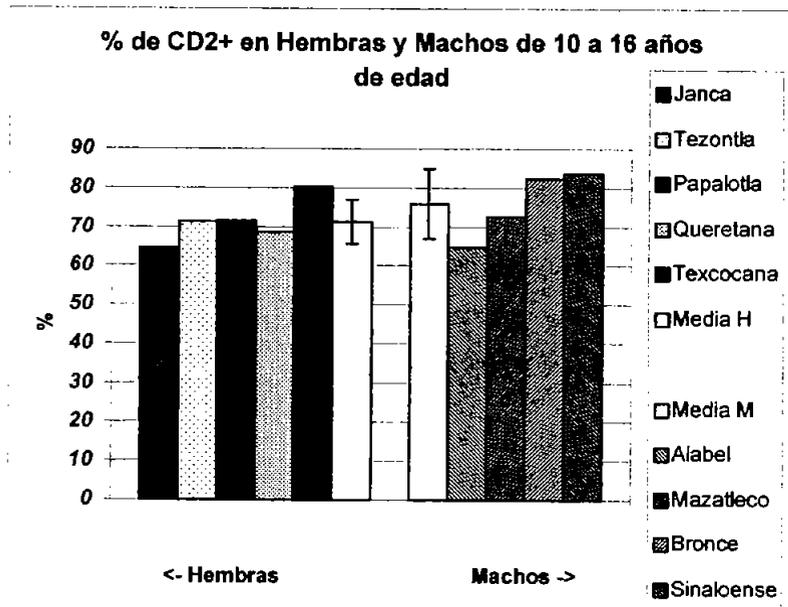
⁽³⁾ Mixteco está castrado.

⁽⁴⁾ Hembras gestantes: Tamalera (1 mes) y Tayana (3 meses).

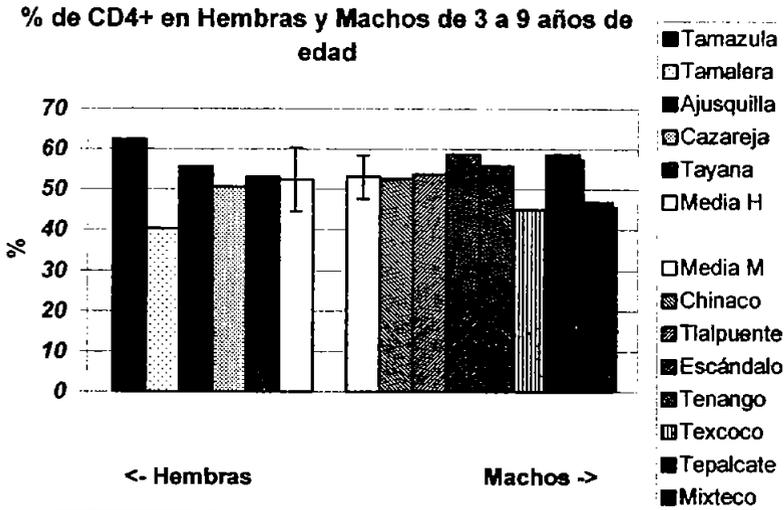
Cuadro 12. % de CD2+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad.



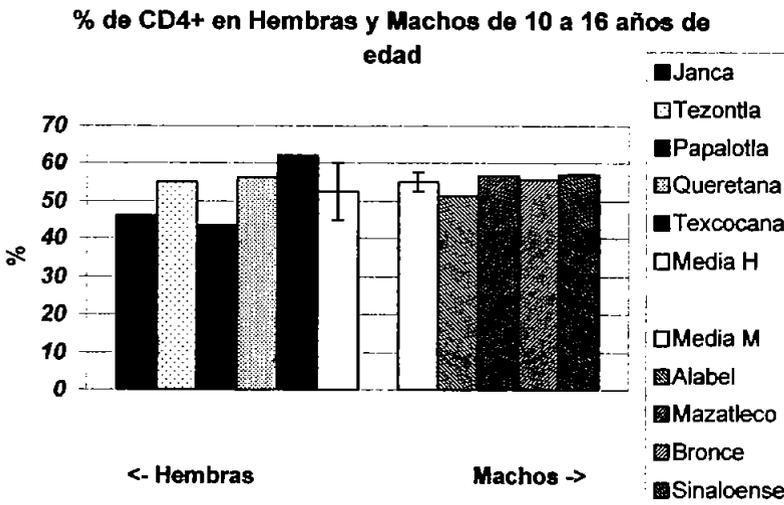
Cuadro 13. % de CD2+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



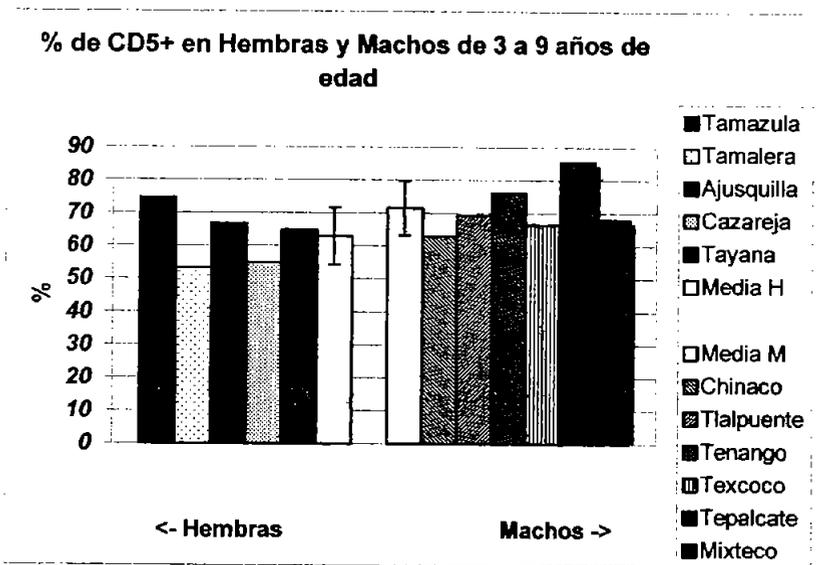
Cuadros 14. % de CD4+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad



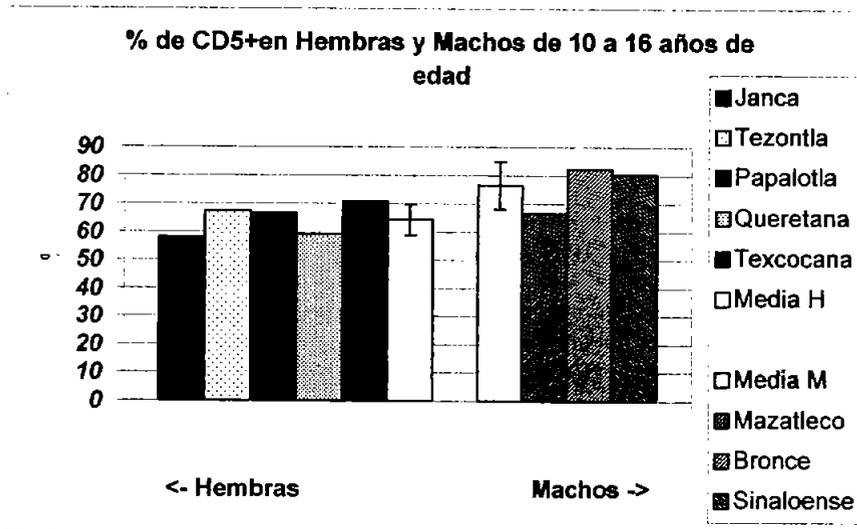
Cuadro 15. % de CD4+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



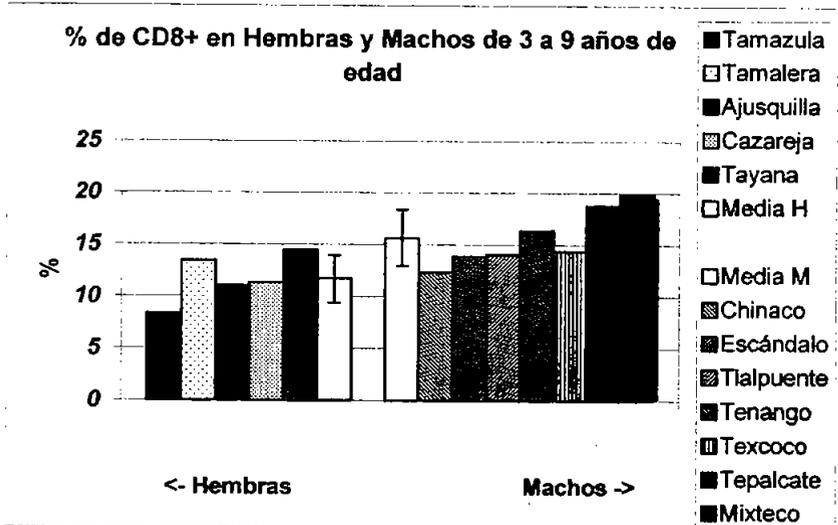
Cuadro 16. % de CD5+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad



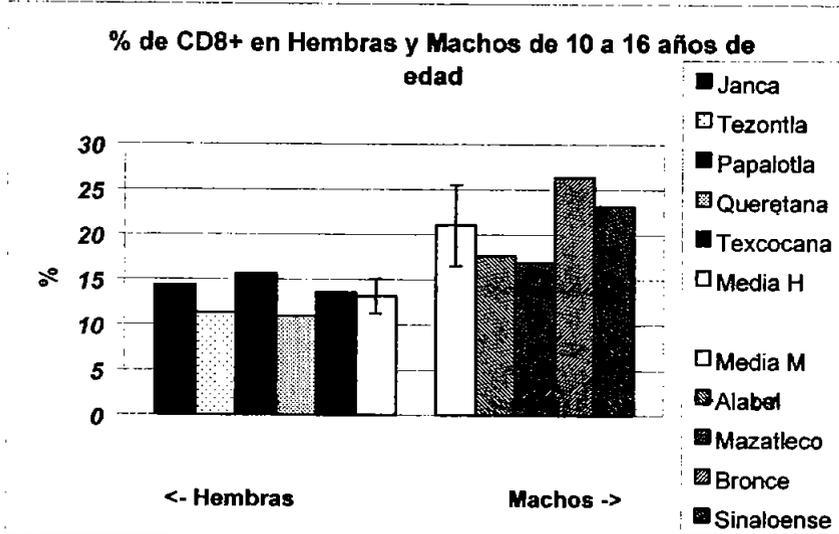
Cuadro 17. % de CD5+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



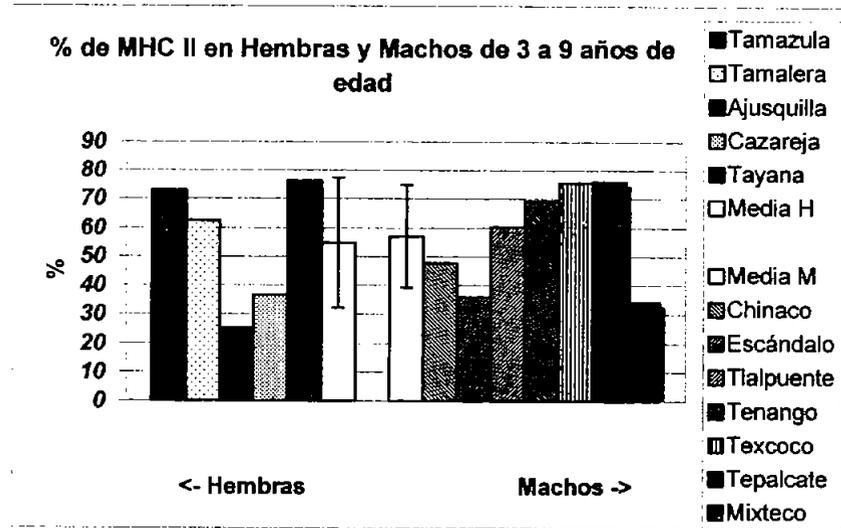
Cuadro 18. % de CD8+ en hembras y machos de 3 a 9 años de edad



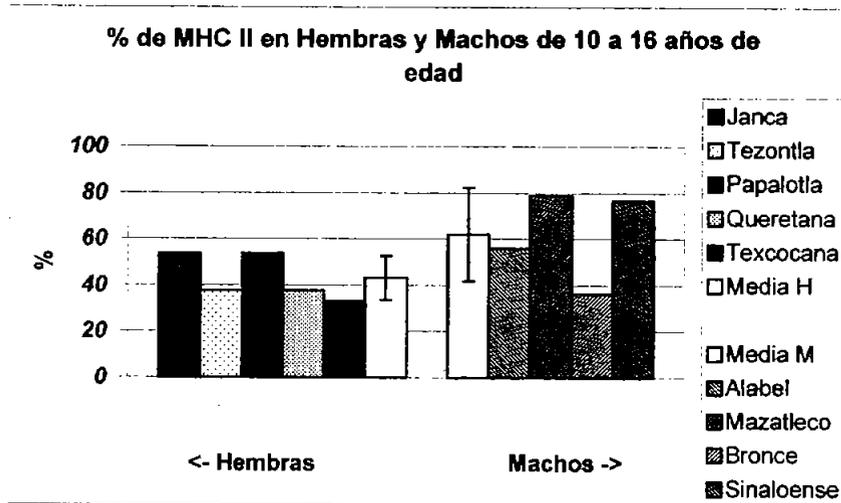
Cuadro 19. % de CD8+ en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



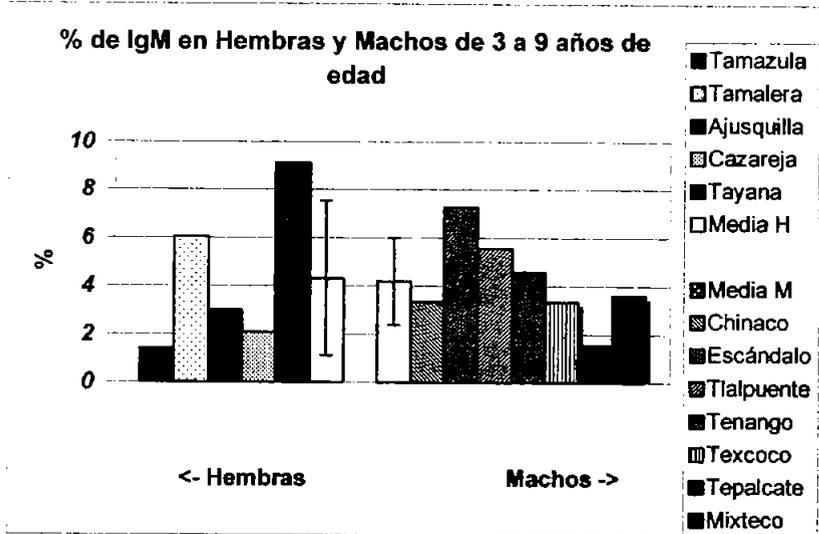
Cuadro 20. % de MHCII en hembras y machos de 3 a 9 años de edad



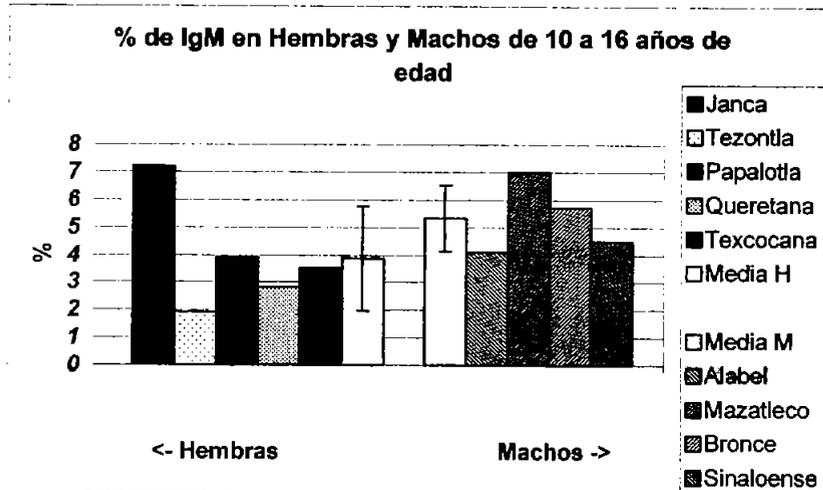
Cuadro 21. % de MHC II en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



Cuadro 22. % de IgM en hembras y machos de 3 a 9 años de edad



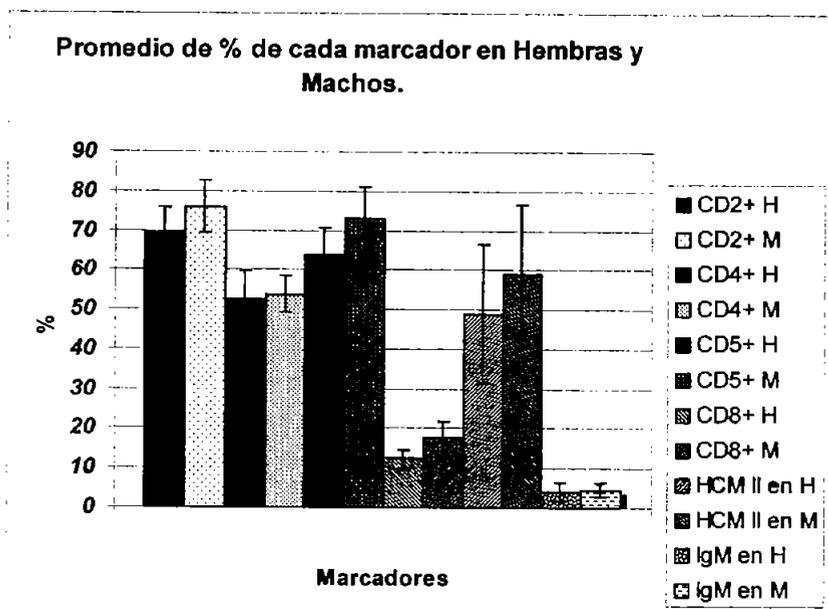
Cuadro 23. % de IgM en hembras y machos de 10 a 16 años de edad



Cuadro 24. Promedios de los porcentajes de marcadores en hembras (H) y machos (M).

| | CD2 | CD4 | CD5 | CD8 | HCMII | IgM |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| Prom M 3-9 | 75,98 | 53,10 | 71,46 | 15,66 | 56,99 | 4,17 |
| Prom M 10-16 | 75,83 | 55,18 | 76,29 | 21,03 | 61,97 | 5,33 |
| PROM | 75,94 | 53,86 | 73,07 | 17,60 | 58,80 | 4,59 |
| DesE M 3-9 | 5,86 | 5,39 | 8,16 | 2,79 | 17,87 | 1,83 |
| Des E M 10-16 | 9,00 | 2,59 | 8,38 | 4,53 | 20,05 | 1,29 |
| Des E total | 6,70 | 4,53 | 8,06 | 4,26 | 17,85 | 1,69 |
| Prom H 3-9 | 67,47 | 52,43 | 62,84 | 11,72 | 54,87 | 4,32 |
| Prom H 10-16 | 71,21 | 52,51 | 64,32 | 13,16 | 43,09 | 3,87 |
| Prom H | 69,34 | 52,47 | 63,58 | 12,44 | 48,98 | 4,09 |
| DesE H 3-9 | 7,20 | 7,99 | 8,86 | 2,35 | 22,71 | 3,21 |
| Des E H 10-16 | 5,83 | 7,65 | 5,59 | 1,99 | 9,83 | 1,99 |
| Des E total | 6,48 | 7,37 | 7,03 | 2,19 | 17,63 | 2,53 |

Cuadro 25. Promedio de % de cada marcador en hembras (H) y machos (M).



CAPÍTULO 10

DISCUSIÓN

En el caballo se han estudiado las poblaciones linfocitarias en sangre periférica en la cual se observa que los linfocitos B constituyen el 17 – 38%, los linfocitos T el 38 – 66% y de los cuales, el 55 – 70% son CD4+ y el 10 – 20% son CD8+.

El desarrollo de anticuerpos monoclonales específicos para antígenos leucocitarios equinos es relativamente reciente. El contar con reactivos de esta naturaleza facilita el estudio del sistema inmune equino y de la respuesta inmune que se desarrolla contra los diversos microorganismos patógenos que afectan al equino. Con la existencia de un número aceptable de anticuerpos monoclonales pero aún no el suficiente, se ha logrado avanzar en el conocimiento de distintas áreas de la inmunología equina, se han logrado avances en el estudio de enfermedades infecciosas donde se ha definido el papel de los linfocitos T citotóxicos, por ejemplo, en las infecciones por los Herpesvirus Equinos (HVE) y el Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE).

También se conocen los cambios en subpoblaciones linfocitarias en sangre periférica, vías aéreas pequeñas, ojo y útero, en enfermedades infecciosas o inflamatorias y en inmunodeficiencia primaria o secundaria.

Un ejemplo del avance de la investigación en la inmunología equina es el estudio realizado por Akens *et al.* (1997) en el que realizó un estudio con anticuerpos monoclonales contra antígenos CD3, CD4, CD5, CD8, CMH I, CMH II, y células B, por dos diferentes métodos de preparación de linfocitos (lisis de sangre entera y separación Ficoll – Paque®), los cuales fueron leídos en FACS, y son comparados también con los resultados obtenidos en otras investigaciones

anteriores en las que no se especifica la raza, edad o sexo de los animales utilizados.

Akens *et al.* (1997) reportó en sus niveles de CD4+ porcentajes de 57.9 (50.9 – 67.9%) en su prueba de lisis de sangre completa y 55.0 (50.2 - 64.6%) en la prueba de Ficoll – Paque ®; Lunn *et al.* (1991) de 56.6 (51.0 – 64.6%) en su prueba de lisis y 58.6 (53.6 – 70.2%) en Ficoll – Paque ®. En el caballo Azteca, con prueba de lisis de sangre completa se obtuvo: en machos de 3 a 9 años de edad 53.1 (48.3 - 57.9%); en hembras de 3 a 9 años de edad 52.43 (42.9 – 61.9%); en machos de 10 a 16 años 55.1 (51.3 – 58.9%); en hembras de 10 a 16 años 52.51 (43.4 – 61.6%). Todos los promedios del caballo Azteca en CD4+ se encuentran dentro del rango reportado por estos investigadores.

Akens *et al.* (1997) reportó en sus niveles de CD5+ porcentajes de 78.2 (68.7 – 83.8%) en su prueba de lisis de sangre completa y 76.8 (71.3 – 83.6%) en la prueba de Ficoll – Paque ®; Lunn *et al.* (1991) de 78.9 (72.7 - 84.9%) en su prueba de lisis y 76.7 (74.3 – 78.9%) en Ficoll – Paque ®. En el caballo Azteca, con prueba de lisis de sangre completa se obtuvo: en machos de 3 a 9 años de edad 71.4 (63.2 - 79.6%); en hembras de 3 a 9 años de edad 62.8 (52.2 – 73.4%); en machos de 10 a 16 años 76.29 (55.6 – 96.8%); en hembras de 10 a 16 años 64.3 (57.7 – 70.9%). El promedio de hembras de raza Azteca en CD5+ está por debajo del rango reportado por estos investigadores.

Akens *et al.* (1997) reportó en sus niveles de CD8+ porcentajes de 16.0 (12.7 – 21.3%) en su prueba de lisis de sangre completa y 16.9 (12.5 – 22.7%) en la prueba de Ficoll – Paque ®; Lunn *et al.* (1991) de 15.2 (11.1 – 19.4%) en su prueba de lisis y 17.2 (11.9 – 19.9%) en Ficoll – Paque ®. En el caballo Azteca, con prueba de lisis de sangre completa se obtuvo: en machos de 3 a 9 años de edad 15.6 (13.2 – 18.0%); en hembras de 3 a 9 años de edad 11.72 (9.32 – 14.12%); en machos de 10 a 16 años 21.0 (14.1 – 27.9%); en hembras de 10 a 16

años 13.1 (10.9 – 15.3%). Todos los promedios del caballo Azteca en CD8+ se encuentran dentro del rango reportado por estos investigadores.

Akens *et al.* (1997) reportó en sus niveles de CMH II porcentajes de 58.3 (38.5 – 86.7%) en su prueba de lisis de sangre completa y 55.1 (33.1 - 84.2%) en la prueba de Ficoll – Paque ®; Lunn *et al.* (1991) de 74.8 (50.9 – 93.6%) en su prueba de lisis y 74.0 (56.8 – 90.6%) en Ficoll – Paque ®. En el caballo Azteca, con prueba de lisis de sangre completa se obtuvo: en machos de 3 a 9 años de edad 56.9 (40.8 - 73.0%); en hembras de 3 a 9 años de edad 54.8 (27.4 – 82.2%); en machos de 10 a 16 años 61.9 (30.9 – 92.9%); en hembras de 10 a 16 años 43.0 (31.2 – 54.8%). Todos los promedios del caballo Azteca en CMH II se encuentran dentro del rango reportado por estos investigadores.

Estudios previos han mostrado que la respuesta inmune mediada por células juega un papel importante en el control inmunológico de infecciones por ejemplo en la infección por VAIE, el estudio realizado por Murakami *et al.* (1998) en el que reportó tres caballos infectados experimentalmente con VAIE. Todos los caballos presentaron fiebre después de la inoculación, posteriormente desarrollaron síntomas crónicos con fiebre intermitente. El análisis con citómetro de flujo mostró una reducción en el número de linfocitos debido a una disminución en el número de CD4+ y CD8+, mientras que el número de células B permaneció normal. Al término de la etapa febril, CD4+ y CD8+ se incrementaron, para CD8+ éste incremento continuó por varios días después del periodo febril. El número de células B tuvo un incremento significativo después del periodo febril. El descenso de CD8+ fue mayor que el de CD4+ aunque el número de leucocitos de sangre periférica y el rango de CD4+ y CD8+ retornó al nivel del periodo de preinoculación, el número de eritrocitos continuó su descenso hasta que la temperatura del cuerpo se normalizó después de cada período de fiebre. Estos resultados sugieren que el ciclo recurrente de fiebre acompañado de viremia es causado por una reacción recíproca del VAIE y la respuesta inmune del hospedador.

Ahora que se conocen algunos parámetros inmunológicos del caballo azteca, la variación de estos permitirá apoyar el diagnóstico de algunas enfermedades o el estado de recuperación del paciente.

Mac Leay *et al.* (1996), reportó un caballo Cuarto de Milla de 3 años con inmunodeficiencia adquirida, con signos clínicos de diarrea crónica debida a *Salmonella typhimurium* y neumonía bacteriana causada por *Actinobacillus equuli*, al cual se le realizó una prueba con citometría de flujo de una muestra de sangre periférica en la que se observó que no hubo alteraciones en los niveles de linfocitos CD4+ y CD8+, pero si tuvieron un descenso en su actividad.

Todo esto nos permite comparar el comportamiento de CD4+ y CD8+ en una enfermedad viral observando una disminución de sus niveles, y en una enfermedad bacteriana en la que los niveles no se alteran pero si disminuye su función.

Conocer el CMH permite la identificación de los genes de respuesta inmunitaria en los animales domésticos, el mejoramiento genético para poder crear grupos más resistentes y aumentar el pedigree del ganado, se puede realizar a través de la tipificación sanguínea utilizando marcadores de CMH.

Se ha caracterizado recientemente a las células dendríticas equinas tanto funcional como fenotípicamente. Esta población de células presenta moléculas del MHC equino clase I y II así como moléculas de adhesión intercelular, así mismo se conoce que la distribución de los antígenos de CMH II en sangre periférica difiere de la del ratón y humano y se tiene una más cercana semejanza a los identificados en perro y cerdo. (Deeg *et al.* 1982.). En la rata, los antígenos de CMH II son expresados por células B pero no por T (Klein. 1986); y en humano las células T expresan moléculas de CMH II solo después de activación (Fedman. 1989); En caballo los antígenos de CMH II son expresados por células T en reposo

al igual que las células B pero están presente en niveles más bajos sobre la superficie de células T (Lunn et. al. 1993).

En una investigación realizada por Barbis *et al* (1994), usaron un panel de anticuerpos monoclonales para caracterizar la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (CMH II) en linfocitos de caballos. La expresión del CMH II fue comparada y determinada entre caballos adultos y potros. Se ha considerado que la expresión de CMH II es más baja en potros que en caballos adultos y que el nivel de este no es hereditaria.

Respecto a los valores hematológicos Cowell y Tyler (2002) reportaron los parámetros de equinos: el Hematocrito (%) 32 – 48 (Cowell y Tyler, 2002), mientras que en el Caballo Azteca se obtuvo 40.9% en machos y 37.4% en hembras. Hemoglobina (g/ dl) 10 – 18 (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca 14 g/ dl en machos y hembras. El conteo eritrocitario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) 6 a 12 (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca obtuvo 7.7 en promedio entre machos y hembras. El porcentaje de reticulocitos fue 0 tanto en los reportes de Cowell y Tyler como en los del Caballo Azteca. El VCM reportado es 34 – 58 fl (Cowell y Tyler, 2002), y en el Caballo Azteca 41.3 fl en machos y 46.2 fl en hembras. El HCM es de 13 a 19 pg (Cowell y Tyler, 2002), y en el Caballo Azteca es de 16.7 pg en machos y 15.6 pg en hembras. El HCMH es de 34.1 g/ dl (Cowell y Tyler, 2002), y en el Caballo Azteca es de 34.15 g/ dl en promedio en hembras y machos.

En los leucocitos, los Neutrófilos Segmentados es de 30 a 75% (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca presentó 45.7% en machos y 46.1% en hembras. Neutrófilos en Banda de 0 a 1% (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca tuvo 0.2% en machos y 0% en hembras. Los linfocitos de 25 a 60% (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca 41.05% en promedio entre machos y hembras. En Monocitos, se reporta 1 a 8% (Cowell y Tyler, 2002), y en el Caballo Azteca se midió 5.5% en machos y 3.6% en hembras. Los Eosinófilos presentan de 1 a 10% (Cowell y Tyler, 2002), y el Caballo Azteca presenta 5.1% en machos y 3.4% en

hembras. Los Basófilos 0 a 3% (Cowell y Tyler, 2002), y en machos y hembras de Caballo Azteca 1.25%.

El Conteo plaquetario reportado (Cowell y Tyler, 2002), es de 1 a 6 ($\times 10^5/\mu\text{l}$) y en el Caballo Azteca es de 2.5 ($\times 10^5/\mu\text{l}$) en machos y 1.9 ($\times 10^5/\mu\text{l}$) en hembras. El Volumen Medio Plaquetario es de 4.1 a 6.9% (Cowell y Tyler, 2002) y el Caballo Azteca presentó 5.15% en machos y 4.98% en hembras.

El presente trabajo tiene la finalidad de aportar más información sobre los niveles de células sanguíneas y algunos marcadores celulares importantes para el sistema inmunológico.

CAPÍTULO 11

CONCLUSIONES

- Contar con los parámetros inmunológicos del Caballo Azteca, permite comparar ante un caso clínico cómo se comportan las poblaciones celulares del paciente y sugerir en base a este comportamiento una serie de enfermedades que conformen un diagnóstico diferencial para distinguir posteriormente diversos padecimientos y llegar a diagnósticos definitivos.
- La técnica de citometría de flujo es un método rápido y eficaz para el análisis de poblaciones linfocitarias de sangre equina.
- Parámetros inmunológicos (CD2+, CD4+, CD5+, CD8+, CMH II e IgM), del caballo de Raza Azteca.

| Marcador | Machos | | Hembras | |
|----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 3 a 9 años | 10 a 16 años | 3 a 9 años | 10 a 16 años |
| CD2+ | 75.9 (70.64 – 81.16%) | 75.8 (61.85 – 89.75%) | 67.4 (58.8 – 76.0%) | 71.2 (64.2 – 78.2%) |
| CD4+ | 53.1 (48.3 – 57.9%) | 55.1 (51.3 – 58.9%) | 52.43 (42.9 – 61.9%) | 52.51 (43.4 – 61.6%) |
| CD5+ | 71.4 (63.2 – 79.6%) | 76.29 (55.6 – 96.8%) | 62.8 (52.2 – 73.4%) | 64.3 (57.7 – 70.9%) |
| CD8+ | 15.6 (13.2 – 18.0%) | 21.0 (14.1 – 27.9%) | 11.72 (9.32 – 14.12%) | 13.1 (10.9 – 15.3%) |
| CMH II | 56.9 (40.8 – 73.0%) | 61.9 (30.9 – 92.9%) | 54.8 (27.4 – 82.2%) | 43.0 (31.2 – 54.8%) |
| IgM | 4.1 (2.5 – 5.7%) | 5.3 (3.5 – 7.1%) | 4.3 (0.5 – 8.1%) | 3.8 (1.6 – 6.0%) |

- Los resultados fueron comparados con reportes anteriores de otras razas y no existe diferencia significativa.

- En general, los valores inmunológicos de las hembras de la Raza Azteca tienen un promedio menor al de los machos, por lo que se presenta de acuerdo al análisis estadístico una diferencia significativa.
- Promedio de valores hematológicos en 21 caballos de Raza Azteca.

| Parámetros | Machos | Hembras |
|--|---------------|----------------|
| Hematocrito (%) | 40.9 | 37.4 |
| Hemoglobina (g/ dl) | 14.0 | 14.3 |
| Conteo Eritrocitario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | 7.8 | 7.6 |
| Reticulocitos (%) | 0 | 0 |
| VCM (fl) | 41.3 | 46.2 |
| HCM (pg) | 16.7 | 15.6 |
| HCMH (g/ dl) | 34.1 | 34.2 |
| Leucocitos | | |
| Neutrófilos Segmentados | 45.7 | 46.1 |
| Neutrófilos en Banda | 0.2 | 0 |
| Linfocitos | 41.0 | 41.1 |
| Monocitos | 5.5 | 3.6 |
| Eosinófilos | 5.1 | 3.4 |
| Basófilos | 1.3 | 1.2 |
| Conteo plaquetario ($\times 10^6/\mu\text{l}$) | 2.5 | 1.9 |
| Volumen medio plaquetario | 5.15 | 4.98 |

- En el Hematocrito se encontró una diferencia significativa observándose que el promedio de las hembras es menor que el de machos.
- En VCM existe diferencia entre el promedio de machos y hembras siendo más alto el de las hembras.
- En Monocitos y Eosinófilos el promedio de las hembras es menor que el de los machos.

- **Absorbancia:** En radiología medida de la capacidad de un medio para absorber radiaciones, y que se expresa como el logaritmo de cociente entre la intensidad de radiación que entra en el medio y la intensidad de la radiación que sale.
- **Alzada:** Estatura del caballo hasta la cruz.
- **Andaluces:** Tuvo su origen en España: Andalucía, Provincias de Cádiz y Sevilla y en la villa de Medina Sidonia. **Yeguada:** Jerez de la Frontera. Hay dos tipos distintos de caballo andaluz. Uno tiene una estructura más sólida, con miembros más robustos que la mayoría de los caballos de monta. El otro tipo es más ligero.
- **Angloárabes:** Caballo ligero originado a partir del cruce de Pura Sangre Inglés con árabe.
- **Anticuerpos:** proteína sérica especializada, producida por los linfocitos B en respuesta a un inmenso número de antígenos diferentes a los que el animal puede estar expuesto.
- **Antisueros:** Suero que contiene anticuerpos. Puede obtenerse de un animal que ha sido expuesto al antígeno o por inyección en los tejidos o sangre, o por una infección. Usado en la prevención, tratamiento o diagnóstico de enfermedades infecciosas
- **Berberiscos:** Caballo originado en África del Norte. Fue introducido en gran número en España por los árabes a partir del año 800 y ha contribuido al desarrollo del Andaluz. Durante el siglo XVII se le llevó a Inglaterra, donde se utilizó para la cría de carreras.
- **Brevilíneo:** de línea corta.

- Charrería: Dícese de todo lo relativo a los charros. Específicamente es el nombre del deporte que cultivan los charros.
- Charro: Jinete que practica la equitación a la usanza nacional.
- Citocinas: Mensajeros biológicos protéicos solubles que controlan macrófagos y linfocitos que toman parte de las reacciones inmunes de base celular. Incluye monocinas y linfocinas.
- Concurso hípico: Prueba deportiva que consiste en saltar obstáculos a caballo.
- Consanguinidad: relación de sangre; parentesco.
- Convexilíneo: de una línea convexa.
- Hiperinmunes: Que posee enormes cantidades de anticuerpos específicos en el suero.
- Hombres del Neolítico: Hombre del período de la era cuaternaria que va del año 5000 al 2500 a. De J. C., entre el mesolítico y la edad de los metales.
- Huestes: Ejército, tropa. *Fig.* Conjunto de partidarios o secuaces.
- Innatos: Congénito; heredado o adquirido antes del nacimiento.
- Justa: combate singular entre dos jinetes.
- Lisadas: Acción de *Lisar*: causar o producir la desintegración de un compuesto, sustancia o célula.
- Menisco del plasma: Superficie cóncava o convexa del líquido plasmático contenida en un tubo estrecho.
- Monoclonales (anticuerpos):
- Oxihemoglobina: Hemoglobina combinada con oxígeno molecular; es la forma en la que el oxígeno es transportado por la sangre.
- Patógenos: Cualquier agente o microorganismo productor de una enfermedad.
- Pura Cepa: *De pura cepa*: auténtico.

- **Rebosar:** Tener algo en abundancia.
- **Rodeos texanos:** Corral de forma circular, donde charros y rancheros compiten en los ejercicios propios de los ganaderos, y fiesta que se celebra con este motivo en algunas partes de América. *Sin.* **Jaripeo:** Voz de origen tarasco con que se denomina al conjunto de ejercicios y suertes que practican los charros, como lazar, colear, jinetear, etc.
- **Solípido:** ungalado con un solo dedo de apoyo; animal de pezuña no hendida. Sólo se incluyen los équidos.
- **Transductor:** Sistema que transforma una cantidad física en otra, p. ej; presión o temperatura en una señal eléctrica.

ABREVIATURAS

- Ag: Antígeno.
- ALE (ELA): Antígeno Linfocitario Equino.
- APC: Células Presentadoras de Antígenos.
- FASC: Fluorescent Activated Cell Sorter.
- HVE: Herpes Virus Equino.
- MHC: Complejo Mayor de Histocompatibilidad. Del inglés *Major Histocompatibility Complex* (CMH).
- NK: Del inglés *Natural Killer*. Células del organismo que se encargan de destruir otras células denominadas *células blanco*.
- TCR: Receptores de Células T.
- VAIE: Virus de Anemia Infecciosa Equina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Akens M. K., Holznagel E., Franchini M., Bracher V. Comparative analysis of equine lymphocyte subsets in whole blood and gradient-purified samples. *Veterinary Immunology and Immunophatology*. 1997; 58: 231 – 237.
- 2 Balson, G.A., Smith, G.D., Yanger, J.A. Immunophenotypic analysis of foal bronchoalveolar Lavage IgM phocytes. *Vet Microbiol*. 1997; 56, 237-246.
- 3 Bogh L D, Duling T A. Flow Cytometry Instrumentation in Research and Clinical Laboratories. *Clinical Laboratory Science* 1993; 167-173
- 4 Colmenares Vargas, O. El Caballo Azteca, 1a ed, Editorial EDAMEX, México: 2002; 73-10829.
- 5 Cowell, Rick L. & Tyler, Ronald D. Diagnostic, Cytology and Hematology of the Horse, 2da ed, Mosby, A Harcourt Health Sciences Company, 2002, U.S.A., pages. 201 – 216.
- 6 Chávez G F. Revista Galope No 1,3, 11-21
- 7 Chong, Y.C, Duffus, W,P,H, Immune response of specific pathogen free foals to EHV- I infection. *Vet Microbiol* 1992; 32, 215- 228.
- 8 Daniel P. Stites,MD, Abba I. Terr. MD, Tristram g. Parslow. MD Inmunología básica y clínica , Editorial El Manual Moderno 2000; 3, 21-90 .
- 9 Erkeller – Yuksel, F,M; Deneys, v, Yunksel,B, et al; Age- related change in human blood lymphocyte Subpopulations. *J. Pediat*, 1992; 120, 216-222.
- 10 Flaminion, M.J.B.F, Rush, Shuman, W, Inmunologia function in horses after non-specific Immunostimulant administration. *Vet. Immun. Immunophatol*. 1998; 63: 303-315.
- 11 Goetzman E. A. Flow Cytometry: Basic Concepts and Clinical Application in Immunodiagnosics *Clinical Laboratory Science* 1998; 177-182
- 12 Gómez Gutiérrez A. El Caballo Criollo Mexicano a Caballo. México 2003; 7-10.
- 13 Hallywell, Richard E. W. Inmunología Clínica Veterinaria, 1ª ed, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, 1992; 515 – 520.
- 14 Hermsen J. Enciclopedia del Caballo Editorial Libsa, Madrid España; 16-17 50-51

- **15** Hurley et al L. Estadística, Curso, Cinvestav – SEP., Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Departamento de Matemáticas, México.
- **16** Josh Slater, BVM&S, MA, PhD, MRCVS Immunological Control of Viral and Bacterial Pathogens. 46 TH Annual AAEP Convention Proceedings, 2000; 11-20.
- **17** Kabbas, Abul et al. Inmunología Celular y molecular, Editorial Mc Graw- Hill- Interamericana, 4a ed, México: 2000.
- **18** Lunn Paul .BVSc, MS, PhD, MRCVS, Dip. ACVIM D. Immunological Basis of Vaccination. AAEP proceedings, USA: 2000.
- **19** MacLeay J. M., Ames T. R., Hayden D. W., Tumas Bainbridge D., Crump A. L., Zhang C. H., Antczak D. F., Variation in expression of MHC class II antigens on horse lymphocytes determined by MHC haplotype. Veterinary Immunology and Immunopathology. 1994; 42: 103 – 114.
- **20** Ensminger, M. E., I. S, M.A. ph. V. Horses and Horsemanship In:Animal Agriculture Series, 7a ed, Interstate Publishers, Inc. Danville, Illinois, U.S.A : 1999 ; 1 – 6, 17 – 24.
- **21** Montaraz J. A. Introducción a la inmunología Primera Edición Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán México:1997; p.p 13-29
- **22** Murakami K., Sentsui H., Shibahara T., Yokoyama T. Reduction of CD4+ and CD8+ T lymphocytes during febrile periods in horses experimentally infected with equine infectious anemia virus. In: Veterinary Immunology and Immunopathology. 1999; 67, 131 – 140.
- **23** Neumann, Karl Friedrich. Crianza de Caballos, Centro de Estudios Agropecuarios, 1ª ed, Grupo Editorial Iberoamericana, S.A. de C. V., México: 2001; 1-10.
- **24** Pastoret P.P., Griebel P. Handbook of Veterinary Immunology, Immunology of Horses and Donkeys, Editorial Academic Press U.S.A: 1998 ; 343-371
- **25** Regueiro Gonzalez, J. R. et al. Inmunología, Biología y Patología del Sistema Inmune, Editorial Panamericana, 3ª ed, México: 2003; 4 – 6.
- **26** Roitt – Brostoff- Mala. Inmunología, Editorial Harcourt, 5ª ed, México: 2000.
- **27** Roitt, Ivan M. Inmunología Fundamental, Editorial Panamericana, 10ª ed, México: 2003; 145 – 150.
- **28** Rojas Espinosa, Oscar. Inmunología de memoria, Editorial Médica Panamericana S.A., de C. V., 2ª ed, México: 2001; 43 – 50.

- **29** Tizard, Ian R. Inmunología Veterinaria, 5ª ed, Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, México: 1998; 8 – 10, 82 – 117.
- **30** Hojas Capítulo 9, linfocitos

Páginas WEB

- www.caballosaztecas Mexicanos.com 1A