

18  
24.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EFFECTO DE LA DIETA ADICIONADA CON  
RACTOPAMINA SOBRE LA POBLACION  
LINFOCITARIA EN CERDOS.**

**T E S I S**

**PARA LA OBTENCION DEL TITULO DE:**

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P O R**

**LEOPOLDO COLIN GONZALEZ**

**ASESORES: MVZ. MPA. MARCO ANTONIO HERRADORA LOZANO  
DRA. ROSA MARIA GARCIA ESCAMILLA  
MVZ. FRANCISCO JAVIER BASURTO ALCANTARA  
MVZ. JOSE RAMIREZ LEZAMA**



**MEXICO, D. F.**

**AGOSTO DE 1997.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**EFECTO DE LA DIETA ADICIONADA CON  
RACTOPAMINA SOBRE LA POBLACIÓN  
LINFOCITARIA EN CERDOS.**

**Tesis presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la**

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Para la obtención del título de  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Por**

***Leopoldo Colín González***

**ASESORES:**

**MVZ. MPA. Marco Antonio Herradora Lozano  
Dra. Rosa María García Escamilla  
MVZ. Francisco Javier Basurto Alcántara  
MVZ. José Ramírez Lezama**

***México, D.F., Agosto de 1997.***

**DEDICATORIA**

**Con todo mi cariño y agradecimiento:**

**A mis padres:**

**Don Leopoldo Colín Gutiérrez y  
Doña Guadalupe González de Colín -a su memoria-  
A quienes les agradezco cada uno de sus esfuerzos, su amor  
y apoyo constantes.**

**A mis hermanos:**

**Beatriz Colín González  
Filemón Colín González y  
Juan Colín González  
Por todo lo que hemos compartido juntos, por su apoyo,  
cariño y respeto.**

**A mis hermanas:**

**Sofía Colín González  
María Colín González  
Teresa Colín González  
Remedios Colín González**

**A mi esposa:**

**Teresa Columba Ulloa Zúrriz  
Por la comprensión, apoyo y solidaridad que me ha brindado.**

**A mi hija:**

**Graciela Guadalupe Colín Ulloa  
Por la ilusión, la responsabilidad y la esperanza con que llenó mi vida.**

**AGRADECIMIENTOS**

**A los trabajadores docentes y administrativos de esta H. Facultad, en especial a:**

**Departamento de Producción Animal, Cerdos:**

**MVZ. Marco Antonio Herradora Lozano  
MVZ. Roxana Mendoza Galicia  
MVZ. Carmen Mercado García  
MVZ. Humberto Ramírez Mendoza  
MVZ. Roberto Martínez Gamba  
MVZ. Javier Espinoza R.  
MVZ. Luis Felipe Rodarte C.**

**Departamento de Diagnóstico Clínico:**

**Dra. Rosa María García Escamilla**

**Departamento de Inmunología y Virología:**

**MVZ. Francisco Javier Basurto Alcántara**

**Departamento de Estadística:**

**MVZ. Marcelino Rosas G.**

**Miembros del Jurado:**

**MVZ. Lucas Melgarejo Velázquez  
MVZ. Héctor Sumano López  
MVZ. Javier Flores Covarrubias  
MVZ. Gabriela Mateos Trigos  
MVZ. Marco Antonio Herradora Lozano**

## CONTENIDO

RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	3
Justificación .....	9
Hipótesis .....	10
Objetivo .....	10
MATERIAL Y METODOS .....	11
Instalaciones .....	11
Animales .....	11
Metodología .....	12
Cuento Leucocitario .....	13
RESULTADOS .....	16
DISCUSION .....	19
CONCLUSIONES .....	23
LITERATURA CITADA .....	25
CUADROS .....	28
ANEXOS .....	32
ILUSTRACION .....	34

**RESUMEN.**

**COLIN GONZÁLEZ LEOPOLDO.** "Efecto de la dieta adicionada con Ractopamina sobre la población linfocitaria en cerdos". (Bajo la dirección de: MVZ. MPA. Marco Antonio Herradora L., MVZ. José Ramírez L., MVZ. Francisco Javier Basurto A., Dra. Rosa María García E.).

El objetivo fue: Evaluar el efecto en la población de linfocitos y otras células de la fórmula blanca presentes en sangre periférica al adicionar en la dieta de cerdos en etapa de finalización ractopamina a dosis de 0, 10 y 20ppm. Se utilizaron 36 cerdos machos castrados con un rango de peso de los 55 a los 65 Kg y 17.5 semanas de edad, producto de la cruce de hembras híbridas con machos Large White, divididos en tres grupos, a dos de los cuales se les adicionó en la dieta, 10 y 20 ppm respectivamente, y al otro no se le aplicó el producto. Se realizaron tres muestreos sanguíneos (M1, M2, y M3) y tres pesajes, cada quince días, y conteos celulares por biometría hemática y separación de linfocitos con el reactivo Histopaque-1077-1. Se aplicaron las técnicas estadísticas de Análisis de Varianza de Kruskal-Wallis y U de Mann Whitney sobre los valores de: Leucocitos Totales Circulantes (LETC), Linfocitos Totales Circulantes (LTC), Linfocitos separados con el reactivo Histopaque 1077-1 (LHP), Neutrófilos (NEU), Eosinófilos (EOS), Monocitos (MON), Basófilos (BAS), neutrófilos en Banda (BAN), Metamielocitos (MET), Hematocrito (HT),

Hemoglobina (HB), Proteínas Plasmáticas (PP), así como Peso del animal (PKg), en cada uno de los muestreos. Los resultados de laboratorio obtenidos por biometría hemática y separación y conteo celular por el método de Ficoll-Hypaque correspondientes a los M1, M2, y M3 mostraron ausencia de valores fuera de lo normal. Como hallazgo al microscopio, en el segundo muestreo se observaron linfocitos en "espejo de mano" en animales del grupo control (0ppm), y de los grupos tratados con 10 y 20 ppm, del segundo y tercer muestreo. En el M1, para NEU, se encontró una diferencia ( $P<0.05$ ) entre el grupo testigo ( $3323.000\pm649.167$ ) y el grupo tratado con 20ppm ( $6045.458\pm793.453$ ). En cuanto a los valores de HT el análisis estadístico indicó una diferencia ( $P<0.05$ ) entre el grupo testigo ( $35.143\pm1.857$ ) y los grupos tratados con 10 y 20ppm ( $41.917\pm1.128$  y  $40.125\pm1.125$  respectivamente). Así mismo, para HB se indica una diferencia ( $P<0.05$ ) entre el grupo testigo ( $11.704\pm0.620$ ) y los grupos tratados con 10 y 20ppm ( $13.954\pm0.377$  y  $13.372\pm0.375$  respectivamente). En el M2 sólo se encontró una diferencia ( $P<0.05$ ) para NEU entre el grupo testigo ( $6701.357\pm1150.535$ ) y el grupo tratado con 10ppm ( $3535.750\pm623.069$ ) más no con el tratado con 20ppm ( $4647.542\pm785.816$ ). En el M3 no se encontraron diferencias. Por los resultados obtenidos se puede concluir, que la ractopamina se puede seguir utilizando en esta especie, pues no tiene un efecto supresor en la población celular, ni efectos colaterales.

## INTRODUCCIÓN.

Para que la industria porcícola de México sea competitiva, necesita, optimizar los recursos con que cuenta para lograr aumentar la producción de carne de calidad magra con una mayor aceptación en el mercado, disminuyendo a su vez los costos de producción, para ello, se ha intentado disminuir la grasa corporal en cerdos para el abasto, a través de modificaciones en los sistemas de alimentación, mejoramiento genético, mejor acondicionamiento y utilización de las instalaciones, así como uso de productos sintéticos agonistas de catecolaminas, que tienen propiedades similares a las de la adrenalina, buscando con esto, llevar al animal a la finalización, produciendo canales magras, en el menor tiempo y costo posible (23) (4) (25).

La Adrenalina es una catecolamina sintetizada y liberada por la médula adrenal que tiene una importante función en la adaptación del organismo a las variaciones bruscas y desfavorables del medio ambiente, causante de estrés (9).

Estimula al sistema nervioso, ejerciendo efectos metabólicos como la glucogenólisis hepática y muscular, así como la movilización de ácidos grasos libres, entre otros.

Esos efectos se producen por su acción sobre dos tipos de receptores, los alfa y los beta adrenérgicos (11).

Las catecolaminas Noradrenalina y Adrenalina, tienen receptores en diferentes poblaciones de linfocitos. Se considera, que su efecto, sobre células linfoides está mediado por beta y alfa receptores. La distinción de subpoblaciones de células linfoides con diferentes receptores puede existir, sugerencia que está basada en la existencia de receptores nicotínicos y muscarínicos sobre los linfocitos. Como en otros sistemas fisiológicos, la diferenciación de poblaciones de receptores puede constituir un sistema regulador significativo (24), (12). Investigadores como Verghese y Snyderman (24) mostraron que la activación de  $\beta$ -receptores en membranas de macrófagos aumentaron la actividad de la enzima adenilciclasa, mientras que la activación del  $\alpha$ -receptor causa una inhibición de ésta.

Semejantes sistemas de regulación del efecto de los  $\beta$ -agonistas pueden también ser funcionalmente importantes, como lo mostrado en el aumento en la síntesis de componentes del complemento después de la estimulación del  $\alpha$ -receptor en monocitos humanos (24).

Los agonistas  $\beta$ -adrenérgicos causan un cambio en la composición de las canales de aves, cerdos, ganado de carne y ovinos. El contenido de grasa es dramáticamente reducido en favor de un alto porcentaje de músculo. El rendimiento de la canal, usualmente es mejorado y es acompañado por hipertrofia muscular (7).

Las drogas o agonistas adrenérgicos son compuestos que ocupan un receptor e imitan la actividad de un mediador biológico natural, usualmente de una forma más potente que el mediador endógeno, (7) éstos actúan sobre las células blanco, vía receptor molecular de membrana; estos productos sintéticos denominados  $\beta$ -agonistas actúan sobre las células del organismo, teniendo receptores en su superficie que se unen a mensajeros de la sangre (16). En el caso de receptores adrenérgicos la acción de los agonistas es en relación con la adrenalina. Los receptores adrenérgicos son receptores ubicados en la membrana celular (7).

Las respuestas de los tejidos al estimular el receptor, fueron originalmente clasificadas de acuerdo a si una droga adrenérgica causaba contracción (alfa) o relajación (beta), del músculo involuntario (16).

Además, los alfa receptores están subdivididos de acuerdo a si son post-sinápticos (alfa 1) o pre-sinápticos (alfa 2); los  $\beta$ -receptores son clasificados según la respuesta del tejido a los  $\beta$ -agonistas, porque algunas drogas adrenérgicas afectan el músculo involuntario en algunos tejidos, pero en otros no; como resulta en el músculo cardíaco y músculo liso intestinal donde los receptores son clasificados como  $\beta$ -1 y en el músculo liso uterino y bronquial los receptores son clasificados como  $\beta$ -2 (16).

Aunque, actualmente diferentes estudios coinciden en la afinidad específica de los  $\beta$ -agonistas entre receptores  $\beta$ -1 y  $\beta$ -2 (7), (16), (19) y recientemente se ha establecido la idea de que existen subtipos adicionales de receptores  $\beta$ , tales como los receptores  $\beta$ -3 en tejido adiposo (Arch et al. 1984) (7), se ha demostrado que esta especificidad de los receptores y consecuentemente su afinidad por los  $\beta$ -agonistas, es similar entre diferentes tejidos como el adiposo y el muscular; por otro lado, puede haber variaciones dentro de un mismo tejido, como por ejemplo entre las capas interna, media y externa de la grasa subcutánea o la grasa perirrenal. Sin embargo, no se debe inferir que la similitud de afinidad entre tejidos vaya a permitir una respuesta similar al emplear diferentes  $\beta$ -agonistas, ya que existen diferencias en cuanto a la afinidad de estos con sus respectivos  $\beta$ -receptores (21).

Los  $\beta$ -agonistas son productos que tienen un marcado efecto sobre el metabolismo de los lípidos, se ha probado que éstos regulan el metabolismo de las grasas de manera similar a la adrenalina, ocasionando una disminución en la síntesis y un aumento en la movilización y catabolismo de las grasas (15), los diferentes  $\beta$ -agonistas difieren en su capacidad para activar en la membrana celular a la enzima adenilciclasa que interviene en la estimulación de los  $\beta$ -receptores desencadenando el metabolismo de los lípidos hasta su conversión en ácidos grasos libres (16), la cualidad de ser más antilipogénicos que lipolíticos es precisamente lo que resulta de mayor interés en la producción de animales destinados al abasto en los que se busca una condición magra (5), lo que puede llevar a un uso extensivo de estos  $\beta$ -agonistas sin conocer su efecto en órganos linfoides como: ganglios linfáticos, el bazo y los propios linfocitos.

Dentro de estos  $\beta$ -agonistas está la ractopamina (Anexo 2) que es una fenetanolamina con actividad agonista  $\beta$ 1-adrenérgica, la estimulación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos desencadena un aumento del AMPc a través de la activación de la enzima adenilciclasa, que forma parte de un sistema enzimático regulador de la acción de hormonas y neurotransmisores en células blanco. Este sistema se localiza dentro de la estructura lipídica de la membrana celular y está constituido por tres componentes: un receptor, una unidad catalítica y una proteína reguladora del nucleótido guanina (24), (22).

Su mecanismo de acción se lleva a cabo cuando se ponen en contacto con el receptor específico activando a la enzima adenilciclasa que convierte al ATP en 3'5'AMP, esta sustancia promueve la activación de lipasas en el adipocito para posteriormente liberar ácidos grasos a la sangre (16), (24), lo cual estimula el crecimiento magro en cerdos (20).

La respuesta a la aplicación de ractopamina en 20 ppm se ve reflejada en la reducción de la cantidad de grasa en un 20% a un 30%, promueve un aumento de fibras intermedias y blancas en un 87%, mejora la ganancia de peso diaria en un 41% la conversión alimenticia en un 32% y requisición de un 32% menos de alimento, lo anterior puede estar relacionado con el número o densidad de receptores  $\beta$ -adrenérgicos en los tejidos (1).

Sin embargo, se ha demostrado que la actividad de la ractopamina en cuanto a la estimulación del crecimiento en cerdos en finalización se ve disminuido después de tres semanas de tratamiento (20).

La relación estrecha que se mantiene entre la función de hormonas como la ACTH y su influencia en la corteza y médula adrenal, hace suponer que los incrementos en la secreción de ACTH para hacer frente a las situaciones de urgencia, como temor, angustia, aprensión, etc, causan incrementos marcados de ésta, produciendo, a su vez, un aumento

en la producción de Adrenalina y Noradrenalina, este aumento, tiene a su vez un efecto en la cantidad de leucocitos en sangre periférica, pues, se ha demostrado que en humanos estas células son aumentadas en el flujo sanguíneo después de la administración subcutánea de adrenalina (0.2 mg), (3). Sin embargo, éstas no incrementan la producción de la hormona ACTH en humanos y las secreciones corticosuprarrenal y medulosuprarrenal, son reguladas independientemente desde el hipotálamo (6). Por lo que el papel de la ACTH con relación al aumento de Adrenalina y su posible influencia en el flujo de linfocitos a sangre periférica no está clara.

#### JUSTIFICACION.

Actualmente es necesario hacer uso de todos los recursos posibles para disminuir los costos de producción, uno de estos recursos es el uso de elementos sintéticos, como la Ractopamina, que hagan posible la producción de carne de cerdo de la mejor calidad, en el menor tiempo posible y al menor costo.

El uso de estos compuestos está basado en la demanda de consumo de carne magra, sin embargo, es necesario establecer cuál es el efecto de estos  $\beta$ -agonistas en órganos y células involucrados directamente en la defensa inmunitaria del organismo.

Para un óptimo uso de estos agentes sintéticos es necesario conocer al máximo sus implicaciones en el funcionamiento del organismo del animal y más aún, si se trata de su influencia en células como lo son los linfocitos, pues estos productos por su semejanza con la Adrenalina, pueden tener un efecto en el flujo de células a sangre periférica en los animales.

#### **HIPÓTESIS.**

Dado que la Ractopamina tiene efectos similares a los de la Adrenalina y ésta actúa sobre receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la membrana celular, al adicionarla en la dieta de los animales tratados, se encontrará aumentado el número de las poblaciones celulares de la fórmula blanca en sangre periférica de cerdos en etapa de finalización.

#### **OBJETIVO.**

Evaluar el efecto de la adición de Ractopamina en la dieta de los animales tratados a dosis de 10 y 20 partes por millón, en la población de linfocitos y otras células de la fórmula blanca presentes en sangre periférica en cerdos en etapa de finalización, comparándolos con el grupo testigo a los que no se les adicionará el producto.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **Instalaciones.**

El trabajo se realizó en las instalaciones del Departamento de Producción Animal Cerdos y de Patología Clínica, en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, en Ciudad Universitaria, México D.F.

Se emplearon 8 corrales de 2 X 2.20m, con una división central de madera, que cuentan con comederos tipo tolva de dos bocas con capacidad para 20 kilogramos, bebederos automáticos, piso de concreto con 2% de declive, con canaletas cubiertas con rejillas para la eliminación de escretas, con capacidad para alojar a dos animales de 60 kilogramos en promedio.

### **Animales.**

Se utilizaron 36 cerdos machos castrados, con un rango de peso de los 55 a los 65 kilogramos y 17.5 semanas de edad, producto de la cruce de hembras híbridas apareadas con machos Large White. Se dividieron en tres grupos de doce animales cada uno; se sacrificaron cuatro animales escogidos al azar, antes de iniciar la prueba, para registrar valores basales, así mismo, a dos de los grupos, se les adicionó en la dieta;

10 y 20 partes por millón de Ractopamina respectivamente, durante siete semanas mientras que al grupo testigo no se le adiciono el producto.

**Metodología:**

Se colectaron muestras sanguíneas basales de los 36 cerdos, 48 horas después de su llegada a las instalaciones, para disminuir el riesgo de alteraciones debido al estrés, para hacer conteo leucocitario, diferencial de leucocitos y conteo de linfocitos, totales circulantes.

Se adicionó el fármaco al alimento en forma de premezcla, a una concentración del 2 % para ser incluida en la premezcla vitamínica, posteriormente se colectaron muestras sanguíneas cada quince días para evaluar las variaciones en las poblaciones leucocitarias, hasta la finalización del experimento.

Una vez sujetado el animal con la cabeza extendida y hacia arriba, se extrajo sangre de la vena yugular con jeringas de 10 ml y agujas del número 18 X 1.5 pulgadas de largo, depositando la sangre (5 ml) en tubos con anticoagulante, (EDTA).

**Conteo Leucocitario.**

En el laboratorio, con una pipeta para dilución de glóbulos blancos se hizo una dilución 1/20 con sangre de la muestra y solución de Turk (ácido acético glacial al 2%), para eliminar los eritrocitos de la muestra, se mezcló por agitación por 3 min., se eliminaron las primeras cuatro gotas de la pipeta y se llenó el hemocitómetro, el cual se colocó en el microscopio, y se observó con el objetivo de 10X, se procedió a contar en las áreas para conteo de glóbulos blancos. El número de células contadas se multiplicó por 50 para obtener el total de leucocitos por mm<sup>3</sup>.

Se realizaron cuentas diferenciales de leucocitos, mediante un frote en cubreobjetos, empleando la tinción de Wright y se observó al microscopio contando 100 células nucleadas y diferenciándolas en: Monocitos, Linfocitos, Neutrófilos, Bandas, Eosinófilos y Basófilos; el número obtenido correspondió al porcentaje de cada una de las células. Los resultados se evaluaron mediante las pruebas: Análisis de varianza de Kruskal-Wallis y U de Mann Whitney (8).

Para la determinación del número total de linfocitos, se utilizó también el reactivo Histopaque-1077-1 (Sigma Chemical Company), a partir de la muestra de cada uno de los animales, en tubos de ensayo previamente identificados, se depositó un mililitro de

Histopaque-1077-1, utilizando una pipeta automática de 1000  $\mu$ l y posteriormente con la misma pipeta y cambiando de puntilla, se tomó un mililitro de la muestra sanguínea de cada animal y se depositó suavemente sobre el Histopaque-1077-1 de cada tubo, procurando no mezclarlos. En seguida, se centrifugaron las muestras a 500 gravedades por 30 minutos, se separaron los linfocitos (que aparecen en una banda blanca separados del Histopaque-1077-1 y la muestra sanguínea) por gradiente de centrifugación, con la misma pipeta y se depositaron en otros tubos de ensaye identificados, se agregó 1 ml de Solución Salina Fisiológica (SSF) y se centrifugó nuevamente para "empaquetar" los linfocitos, después, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el paquete de linfocitos en SSF 1 ml. A continuación se procedió de acuerdo a la metodología descrita para los conteos leucocitarios y así determinar la población total de linfocitos de la muestra.

Los grupos que se evaluaron fueron: 0 partes por millón, 10 partes por millón y 20 partes por millón de Ractopamina.

Los valores que se evaluaron estadísticamente fueron: Leucocitos Totales Circulantes (LETC) a los 15, 30 y 47 días de prueba; Linfocitos Totales Circulantes (LTC), Linfocitos separados con reactivo Histopaque-1077-1 (LHP), Neutrófilos (NEU), Eosinófilos (EOS), Monocitos (Mon), Basófilos (BAS), Neutrófilos en banda (BAN), Metamielocitos

**(MET), Hematocrito (HT), Hemoglobina (HB), Proteínas Plasmáticas (PP) y Peso del animal (PKg), en los mismos tiempos.**

## RESULTADOS.

La prueba se llevó a cabo en los meses de junio-julio de 1995, teniendo una duración de 47 días, período durante el cual se realizaron tres muestreos sanguíneos (M1, M2 y M3).

Los resultados de laboratorio obtenidos en las pruebas de biometría hemática y separación de linfocitos mediante el reactivo Histopaque-1077-1, correspondientes a los M1, M2 y M3, mostraron ausencia de valores fuera de los valores de referencia, de acuerdo con los cuadros de valores normales para el cerdo <sup>1</sup>. (Anexo I).

En el M1 los resultados del análisis estadístico para los diferentes valores evaluados mostraron para NEU una media de  $3323.000 \pm 649.167$  y una diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) entre el grupo testigo 0ppm y el grupo tratado con 20ppm que tuvo una media de  $6045.458 \pm 793.453$ . (Cuadro No.1)

---

<sup>1</sup>Tabla oficial de valores normales del Dr. Germa y Glacola. Departamento de Diagnóstico Clínico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

También se encontró diferencia estadística ( $P < 0.05$ ) para los valores de HT entre el grupo testigo con una media de  $35.143 \pm 1.857$  y los grupos tratados con 10 y 20ppm con medias de  $41.917 \pm 1.128$  y  $40.125 \pm 1.125$  respectivamente. (Cuadro No.1)

Para los valores de HB se encontró diferencia ( $P < 0.05$ ) entre el grupo testigo que tuvo una media de  $11.704 \pm 0.620$  y los grupos tratados con 10 y 20ppm con medias de  $13.954 \pm 0.377$  y  $13.372 \pm 0.375$  respectivamente. (Cuadro No.1)

El análisis estadístico en el M2 únicamente indicó una diferencia ( $P < 0.05$ ) para los valores NEU entre el grupo testigo con una media de  $6701.357 \pm 1150.535$  y el grupo tratado con 10ppm con una media de  $3535.750 \pm 623.069$ ; más no con el tratado a una dosis de 20ppm de Ractopamina, que presentó una media de  $4647.542 \pm 785.816$ . (Cuadro No.2)

En el M3 no se encontraron diferencias estadísticas para ninguno de los valores. (Cuadro 3)

Lo anterior nos indica que en el M1 el grupo a tratar con 20 ppm de Ractopamina se encontró con un aumento significativo de los neutrófilos en comparación con el grupo testigo 0 ppm.

En el caso de la hemoglobina (HB) y hematocrito (HT), se encontraron aumentados ambos en los grupos tratados con 10 y 20 ppm, aunque dentro de los valores de referencia.

El análisis de varianza de Kruskal-Wallis para M 1, nos mostró diferencias ( $P < 0.05$ ) para los valores de HT y HB, mientras que en el M 2 y M 3 no se encontraron diferencias significativas. (Cuadro No.4)

Adicionalmente, como hallazgo al microscopio, en el M2 se observaron linfocitos en forma de "espejo de mano" en los frotis de las muestras sanguíneas de dos animales pertenecientes al grupo 1 (0 ppm). Esta condición también se presentó en los frotis de dos animales del grupo 3 (20 ppm) del mismo muestreo, y en un animal del grupo 2(10 ppm) correspondiente al M3. (Fotografía 1)

## DISCUSION.

En el presente trabajo se observó que al menos numéricamente, los conteos celulares, se mantuvieron en rangos dentro de los valores de referencia para la especie en cuestión; sin embargo, los resultados obtenidos se encontraron por arriba de los promedios de la especie<sup>2</sup>; esto se explica por el confort o bienestar brindados a los animales, en cuanto a condiciones de alojamiento y alimentación así como su estado físico y de salud.

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en el M1, indicó diferencias entre grupos para los valores NEU, HT y HB (Cuadro No.1); sin embargo, estos resultados pueden estar relacionados con distintos factores como: edad, estres y la condición del animal, entre otros.

Al respecto, H. Hirni et al. (1990), mencionan que el estres durante el muestreo sanguíneo, causa aumento en la liberación de Adrenalina, modificando fuertemente las reacciones de los linfocitos, aunque, se debe considerar que en el presente estudio, no se encontraron afectadas estas células.

---

<sup>2</sup>

Op. Cit.

En el cerdo, el número total de leucocitos disminuye después del nacimiento, posteriormente hay una elevación alrededor de las dos semanas de edad. De 7,000 células/microlitro al momento del nacimiento, la cuenta aumenta gradualmente hasta 19,000 a 20,000 células/microlitro a las cinco semanas. De la sexta a la decimosegunda semana la cuenta varía de 10,000 a 40,000 células/microlitro, con una media de 21,000. (2)

En el caso de NEU de los cerdos del grupo a tratar con 20ppm, el conteo celular fue mayor con una media de  $6045.458 \pm 793.453$  respecto al grupo testigo, mismo que presentó un conteo celular menor con una media de  $3323.000 \pm 649.167$  estas diferencias fueron significativas ( $P < 0.05$ ), lo anterior puede atribuirse a una leucocitosis neutrofilica en respuesta al estrés y a una actividad muscular enérgica que aumenta los neutrófilos, fenómeno que suele ocurrir en la etapa de adaptación de los animales a su nuevo ambiente. (2) Aunado a esto, la cuenta total de leucocitos (LETC) en el grupo a tratar con 20ppm, se encontró aumentada, como reflejo de la elevación de los neutrófilos, sin ser dicho aumento significativo ( $P < 0.05$ ). (Cuadro No.1)

Es atribuible a las mismas causas, que en el mismo muestreo (M1), el HT presentó una media de  $41.97 \pm 1.128$  en el grupo tratado con 10ppm y la HB una media de  $40.125 \pm 1.25$  en el grupo tratado con 20ppm teniendo ambos una diferencia de ( $P < 0.05$ ) con el grupo testigo del que se obtuvo una media de  $35.143 \pm 1.857$ . (Cuadro No.1)

Para M2, los resultados obtenidos indican que existe una diferencia ( $P < 0.05$ ) entre la cuenta de neutrófilos del grupo tratado con 10ppm de Ractopamina, respecto al grupo testigo, en donde aparentemente los neutrófilos disminuyen, sin embargo estos valores se encuentran dentro de los rangos de referencia.

H. Hirni et al. (1990) indica que los  $\beta$ -agonistas inhiben funciones de células mononucleares a la vez que estimulan la producción de anticuerpos en roedores, sin mencionar, si existe algún efecto supresor en cuanto a cantidades de células. (10)

Por otro lado, Frank, R. Dunshea (1991), indica que los niveles óptimos de inclusión de Ractopamina son los de 10 a 20ppm en cerdos en finalización, aunque sus estudios están dirigidos a los efectos de la Ractopamina como agente de repartición, lo planteado por estos dos autores nos hace pensar que esa aparente disminución puede ser reflejo de otros factores. (17) (Cuadro No.2)

En cuanto al muestreo número 3 no se encontraron diferencias estadísticas para ningún caso, esto puede estar relacionado con una reducción en la intensidad de respuesta, que se presenta cuando las células han sido expuestas por tiempo prolongado a los  $\beta$ -agonistas. Lo que es conocido como desensibilización y consiste en el secuestro de

los  $\beta$ -receptores a nivel de la superficie de la membrana celular. Dicho efecto se presenta a partir de la tercera semana de exposición a los  $\beta$ -agonistas. (14, 20)

El análisis de varianza de Kruskal-Wallis, para M1, coincide con los resultados de el análisis de varianza al encontrar diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para Hematocrito (HT) y Hemoglobina (HB). (Cuadro 4)

En cuanto a los hallazgos de células "en espejo de mano", formas anormales de células, se sabe que son frecuentemente encontradas y su hallazgo se atribuye a estados inmaduros de las células; sin embargo, este tipo de células con morfología tan característica, se ha encontrado también en humanos, asociado a casos de Leucemia Bifenotípica con morfología mixta característica. (13) En otro caso se encontraron células con esta misma morfología en un informe de Leucemia Linfoblástica Aguda (18); sin embargo, no se atribuye esta morfología al tratamiento de Ractopamina aplicado, pues inclusive, esta característica, se presenta por igual en animales tratados y no tratados.

## CONCLUSIONES.

Aunque la literatura citada señala la forma en que actúan los  $\beta$ -agonistas activando a los  $\beta$ -receptores, aumentando la actividad de la Adenilciclasa e interviniendo en las funciones de los macrófagos (24), los resultados obtenidos no indican con claridad, si la Ractopamina influye determinadamente en un aumento y permanencia de la población celular en sangre periférica, sin embargo, establece que no hay una supresión en los conteos celulares de los animales muestreados.

Se puede concluir que los indicios respecto al aumento de la población celular de Leucocitos se relaciona con el aumento de los Neutrófilos, pero, no queda claro si se debe específicamente al tratamiento de Ractopamina a 10ppm o a otros factores, como el estrés durante el muestreo.

Los efectos de la Ractopamina a 10ppm y 20ppm encontrados en las poblaciones celulares de los animales estudiados y la no existencia de efectos colaterales en los cerdos, así como el no haber encontrado en las muestras sanguíneas analizadas indicios de patología o alteración, indican que productos como la Ractopamina pueden ser utilizados en beneficio de la porcicultura, por sus cualidades para disminuir la grasa en la

canal. Además de que la etapa en la que se utiliza en la especie porcina, es en la de finalización y su uso aparentemente, no es útil después de los 30 a 35 días de tratamiento, debido a la ocupación o la desensibilización de receptores; consecuentemente, es un producto factible de ser retirado antes de que los animales sean enviados a rastro, representando esto una mayor seguridad para el consumidor.

Por lo expuesto, son necesarias otras investigaciones, que permitan encontrar cuál es el efecto directo de la Ractopamina o de otros  $\beta$ -agonistas en órganos hematopoyéticos o en células precursoras de células que intervienen en la defensa inmune del animal, como lo son los linfocitos y los leucocitos en general, para poder determinar con exactitud, si únicamente tienen éstos un efecto estimulante en el metabolismo celular y en sus funciones de defensa, como la producción de anticuerpos, (10) o si efectivamente contribuyen a estimular la producción de células sanguíneas.

## LITERATURA CITADA.

1. Bark, L. S.; Stahly, T. S.; Cromwell, G. L. and Miyat, J.: "Influence of genetic capacity foolean tissue acretion in pigs fed Ractopamina." J. Anim. Sci. **70**: 3391-3400, (1992)
2. Benjamin, Maxine, M., B. S., D.V.M. Outline of Veterinary Clinical Pathology. Ed. Limusa. 1990. pp.59, 99-129.
3. Creary, B.; Borysenko, M.; Sutherland, D.C.; Kutz, I.; Borysenko, J.Z.; and Benson, H.: Decrease in mitogen responsiveness of mononuclear cells from peripheral blood after epinephine administration in humans. J. Immunol. **130-2**: 694-697. (1983).
4. Cromwell, G.L.: Repartitioning Agents Whant's Ahead Biotechnology in the Feed Industry. Proceedings of Alltech's 4th. Anual Symposium. 23-35. Alltech Technical Publications.
5. Duquette, P.F., and Muir, L.A.: Effect of the Beta-adrenergic, Isoproterenol, Clenbuterol, L-640-033 and BRL 35135 on Lypolysis and Lipogenesis in Rat Adipose Tissue in Vitro. J. Anim. Sci. **661 (Supl.1)**: 265 (Abstr.) (1985).
6. F. Ganong W. Fisiología Médica. Ed. El Manual Moderno. 1986. pp. 301-303, 318-319.
7. Fiems, L.O.: Effect of beta-adrenergic agonists in animal production and their mode of action. Ann. Zootech., **36**: No. 3. pp.271-290. (1987).
8. G.D. Steel, Robert; H. Torrie, James. Principles and Procedures of statistics. A biometral Approach. Second edition. McGraw-Hill. México. 1992. pp. 530-531.
9. Gürcler, H; Ketz, H.A.; Kolb, L.E.; Schroder, L.; Seidel, H. Fisiología Veterinaria, Vol. 1. pp 118. Editor, Prof. Dr. Erich Kolb, Leipzig. Editorial Acribia-Zaragoza. España. 1987.
10. Himi, H.; Lazary, S.; and Blum, J.: Immunological Reactions of Pigs During Long-Term B-Adrenergic Treatment. J. Vet. Med. **A37**: 264-269. (1990).

11. Hudson, Leslie; C. Hay, Frank. "Practical Immunology". 3th. Edition. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London. Edinburgh, Boston, Melbourne. pp. 21-25. 1989.
12. Kelly, K. W.: Catecholamines. In: Animal Stress. Moberg, P. G. Editor. College of Agriculture, University of Illinois, Urbana Illinois. American Physiological Society. Bethesda, Maryland. 1985.
13. L. Zucker, M., V. Plapp, Fred., M. Rachel, J., A. Murphy, C., A. Bohn, B., L. Boeschen, J., M. McCann, L. and T. Peterson, J. An adult case of acute biphenotypic leukemia with characteristic mixed morphology. Miss. Med. 90: No. 9. pp. 601-604 September (1993).
14. Liu, C.V., Boyer, J.L., and Mills, S. E.: B-Adrenergic agonists inhibition of insulin-stimulated lipogenesis in porcine adipocytes. J. Anim. Sci. 66 (supl.1):249 (Astr) 1988.
15. Mersmann, H.J.: Animal Growth Regulation. 337-357. Plenum Press. New York, (1987).
16. Peters, A.R.: "B-agonists as Repartitioning Agents: A Review". Vet. Rec. 124: 417-420. (1989).
17. R. D. Frank. Factors affecting efficacy of B-agonists for pigs. Pig. News. 12: No. 2. pp.227-231 Jun. (1991).
18. Renu, Saxena, P. Dhot., Sharma, M.C., Saraya, A.K. Hand mirror cell variant of acute lymphoblastic leukaemia. JAPI 42: No.9. pp.744-745 May, (1994).
19. Rodbell, M.: The Role of Hormone Receptors and GTP-Regulatory Proteins in Membrane Transduction. Nature. 284: 17-27. (1980).
20. Sainz, R.D.; Kim, Y.S.; Dunshea, F.R.; and Campbell, R.G.: "Effects of Ractopamine in Pig Muscles: Histology Calpains and B-Adrenergic Receptors". Aust. J. Agric. Res. 44: 144-8. (1993).
21. Spurlock, M.E., Cusamano, J.C. and Mills, S.E.: The Affinity of Ractopamine, Clenbuterol, and L-644-969 for the B-adrenergic Receptor Population in Porcine Adipose Tissue and Skeletal Muscle Membrane. J. Anim. Sci. 71: 2061-2065. (1993).

22. Stiles, G. L. Caron, M. G. and Lefkowitz, R. J.: B-Adrenergic Receptors: Biochemical Mechanisms of Physiological Regulation. Physiol. Rev. **64**: 661-743. (1984).
23. Stites, C.R.; Mckeith, F.K.; Singh, S.D.; Bechtel, P.S.; Mowrey, D.A. and Jones, D.J.: "The Effect of Rectopamine Hydrchloride on the Carcass Cutting Yields of Finishing Swine". J. Anim. Sci. **69**: 3094-3101. (1991).
24. Verghese, M. W., and R. Snyderman. "Hormonal activation of adenylate cyclase in macrophage membranes is regulated by guanine nucleotides". J. Immunol. **130**: 869-873. (1983).
25. Williams, P.E.V.: "The Use of B-agonists as Means of Altering Body Composition in Livestock Species". Nutrition Abstracts and Reviews. **57**: 453-464. (1987).

**CUADRO 1.**  
**MUESTREO 1.**

VALORES HEMATICOS DE CERDOS EN FINALIZACION, ANTES DEL TRATAMIENTO CON RACTOPAMINA

VARIABLE	0PPM X± EE	10PPMX± EE	20PPMX± EE
PKG	62.688±1.957	60.708±1.631	60.375±0.996
LHP/mm <sup>3</sup>	2828.571±791.612	4683.333±1092.837	3504.167±789.070
LTC/mm <sup>3</sup>	10247.286±897.151	8793.542±930.473	9629.000±1405.948
LET/mm <sup>3</sup>	16307.143±1131.709	15458.333±1105.236	19766.667±1801.781
NEU/mm <sup>3</sup>	3323.000±649.167 <sup>a</sup>	4097.792±455.740	6045.458±793.453 <sup>a</sup>
EOS/mm <sup>3</sup>	626.429±171.540	458.625±98.533	432.792±136.496
MON/mm <sup>3</sup>	1753.286±697.392	1406.667±286.967	1564.517±438.890
BAS/mm <sup>3</sup>	136.571±73.227	267.750±93.097	349.750±122.306
BAN/mm <sup>3</sup>	117.071±70.523	72.000±38.291	189.250±125.098
MET/mm <sup>3</sup>	103.500±73.760	361.958±130.795	1227.583±722.778
HT %	35.143±1.857 <sup>a</sup>	41.917±1.128 <sup>b</sup>	40.125±1.125 <sup>bc</sup>
HB g/dl	11.704±0.620 <sup>a</sup>	13.954±0.377 <sup>b</sup>	13.372±0.375 <sup>ab</sup>
PP g/dl	7.929±0.125	7.775±0.110	7.758±0.248

PKG= PESO DEL ANIMAL EN KILOGRAMOS, LFH=LINFOCITOS POR EL METODO DE SEPARACION DE CELULAS DE FICOLL-HYPACUE 1077-1, LTC=LINFOCITOS TOTALES CIRCULANTES, LETC=LEUCOCITOS TOTALES CIRCULANTES, NEU=NEUTROFILOS, EOS=EOSINOFILOS, MON=MONOCITOS, BAS=BASOFILOS, BAN= NEUTROFILOS ENBANDAS, MET=METAMIELOCITOS, HT=HEMATOCRITO, HB=HEMOGLOBINA, PP=PROTEINAS PLASMATICAS, PPM=PARTES POR MILLON.

abc=LITERALES DIFERENTES EN EL MISMO RENGLON SIGNIFICA DIFERENCIA ESTADISTICA (P<0.05).

•INDICA DIFERENCIA (P<0.05).

CUADRO 2.  
MUESTREO 2.

EFFECTO DE LA ADICION DE RACTOPAMINA EN LA DIETA DE CERDOS EN FINALIZACION SOBRE DIFERENTES VALORES HEMATICOS.

VARIABLE	0PPM X±EE	10PPM X±EE	20PPM X±EE
PKG	82.071±2.221	83.417±2.061	83.875±1.363
LHP/mm <sup>3</sup>	5407.143±879.761	5291.667±649.470	4800.000±774.548
LTC/mm <sup>3</sup>	10913.286±1252.276	8799.208±1045.091	9730.250±909.534
LETC/mm <sup>3</sup>	18142.857±2093.056	12970.833±1566.221	14900.000±1135.765
NEU/mm <sup>3</sup>	6701.357±1150.535*	3535.750±623.069*	4647.542±765.816
EOS/mm <sup>3</sup>	290.214±94.274	446.375±135.880	300.042±60.264
MON/mm <sup>3</sup>	121.143±84.316	30.000±30.000	132.958±86.328
BAS/mm <sup>3</sup>	0.000±0.000	112.042±50.767	57.250±37.715
BAN/mm <sup>3</sup>	116.857±57.285	39.958±29.530	26.250±26.250
MET/mm <sup>3</sup>	0.000±0.000	7.500±7.500	5.708±5.708
HT%	38.357±0.769	38.708±1.300	36.750±2.108
HB g/dl	11.343±0.356	11.517±0.649	11.236±0.707
PP g/dl	6.943±0.136	7.033±0.115	6.917±0.129

PKG=PESO DEL ANIMAL EN KILOGRAMOS, LFH=LINFOCITOS POR EL METODO DE SEPARACION DE CELULAS DE FICOLL-HYAPQUE 1077-1, LTC=LINFOCITOS TOTALES CIRCULANTES, LETC=LEUCOCITOS TOTALES CIRCULANTES, NEU=NEUTROFILOS, EOS=EOSINOFILOS, MON=MONOCITOS, BAS=BASOFILOS, BAN=NEUTROFILOS EN BANDAS, MET=METAMIELOCITOS, HT=HEMATOCRITO, HB=HEMOGLOBINA, PP=PROTEINAS PLASMATICAS, PPM=PARTES POR MILLON.

\*INDICA (P<0.05).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## CUADRO 3.

## MUESTREO 3.

EFECTO DE LA ADICION DE RACTOPAMINA EN LA DIETA DE CERDOS EN FINALIZACION SOBRE DIFERENTES VALORES HEMATICOS.

VARIABLE	0PPMX±EE	10PPMX±EE	20PPMX±EE
PKG	99.333±2.136	101.042±1.897	97.208±1.334
LHP/mm <sup>3</sup>	7241.667±1336.501	6429.167±625.453	7095.833±603.194
LETC/mm <sup>3</sup>	15341.667±1031.295	14816.667±1198.900	14787.500±1736.802
NEU/mm <sup>3</sup>	2315.750±602.016	1387.000±615.031	1899.292±505.062
EOS/mm <sup>3</sup>	497.500±145.023	597.458±141.550	358.125±72.037
MON/mm <sup>3</sup>	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
BAS/mm <sup>3</sup>	26.833±26.833	23.875±16.318	64.833±27.780
BAN/mm <sup>3</sup>	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
MET/mm <sup>3</sup>	0.000±0.000	0.000±0.000	0.000±0.000
HT%	38.750±2.762	39.917±1.720	40.500±1.021
HBg/dl	11.933±0.791	12.867±0.380	12.583±0.314
PPg/dl	6.717±0.259	7.067±0.157	6.858±0.121

PKG=PESO DEL ANIMAL EN KILOGRAMOS, LFH=LINFOCITOS CON LA TECNICA DE SEPARACION DE CELULAS DE FICOLL-HYPAQUE 1077-1, LTC=LINFOCITOS TOTALES CIRCULANTES, LETC=LEUCOCITOS TOTALES CIRCULANTES, NEU=NEUTROFILOS, EOS=EOSINOFILOS, MON=MONOCITOS, BAS=BASOFILOS, BAN= NEUTROFILOS EN BANDAS, MET=METAMIELOCITOS, HT=HEMATOCRITO, HB=HEMOGLOBINA, PP=PROTEINAS PLASMATICAS, PPM=PARTES POR MILLON.

**CUADRO 4.**  
**EFFECTO DE LA RACTOPAMINA ADICIONADA A LA DIETA DE CERDOS EN FINALIZACION SOBRE VALORES HEMATICOS MUESTREOS**  
**1, 2 Y 3**

ANALISIS DE VARIANZA DE KRUSKAL-WALLIS MUESTREOS 1, 2 Y 3.

VARIABLE	MUESTREO 1	MUESTREO 2	MUESTREO 3
PKG	0.633	0.359	0.238
LHP/mm <sup>3</sup>	0.540	0.808	0.789
LTC/mm <sup>3</sup>	0.578	0.419	0.722
LETc/mm <sup>3</sup>	0.142	0.142	0.743
NEU/mm <sup>3</sup>	0.102	0.073	0.280
EOS/mm <sup>3</sup>	0.525	0.068	0.699
MON/mm <sup>3</sup>	0.994	0.464	1.000
BAS/mm <sup>3</sup>	0.480	0.076	0.288
BAN/mm <sup>3</sup>	0.789	0.219	1.000
MET/mm <sup>3</sup>	0.113	0.739	1.000
HT%	0.005*	0.540	0.998
HBg/dl	0.005*	0.871	0.519
PPg/dl	0.519	0.733	0.644

PKG=PESO DEL ANIMAL EN KILOGRAMOS, LFH=LINFOCITOS TOTALES CIRCULANTES CON LA TECNICA DE SEPARACION DE CELULAS DE FICOLL-HYPAQUE 1077-1, LTC=LINFOCITOS TOTALES CIRCULANTES, LETC=LEUCOCITOS TOTALES CIRCULANTES, NEU=NEUTROFILOS, EOS=EOSINOFILOS, MON=MONOCITOS, BAS=BASOFILOS, BAN= NEUTROFILOS EN BANDAS, MET=METAMIELOCITOS, HT=HEMATOCRITO, HB=HEMOGLOBINA, PP=PROTEINAS PLASMATICAS.

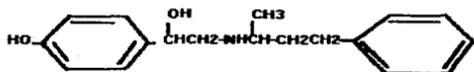
\* (P<0.05).

**ANEXO 1\***  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA-UNAM**  
**DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO**

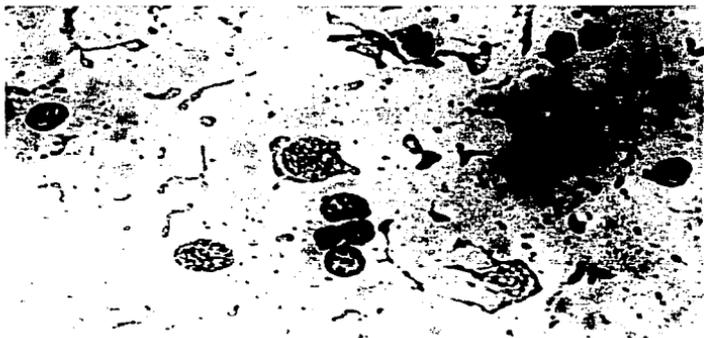
**BIOMETRIA HEMATICA (PORCINO)**

	VALORES NORMALES
HT %	32.0-50.0
Hb g/dl	10.0-16.0
P.P. g/dl	6.0-8.0
Leucocitos/mm <sup>3</sup>	11,000-22,000
Neutrófilos/mm <sup>3</sup>	3,200-10,000
Bandas/mm <sup>3</sup>	0-800
Linfocitos/mm <sup>3</sup>	4,500-13,000
Monocitos/mm <sup>3</sup>	250-2,000
Eosinófilos/mm <sup>3</sup>	50-2,000
Basófilos/mm <sup>3</sup>	0-300

\* Se consideraron sólo los valores que se midieron en este trabajo de tesis



ANEXO 2. COMPOSICION QUIMICA DE LA RACTOPAMINA.



FOTOGRAFIA 1. LINFOCITOS EN "ESPEJO DE MANO" DE CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACION. (140 X)