

01621  
a 12



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CARACTERIZACION DE LA CONCENTRACION DE  
ERITROPOYETINA (EPO) EN SUERO SANGUINEO DE  
YEGUAS DE SALTO, EN LA CIUDAD DE MEXICO D. F.

## T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
JUAN MIGUEL BURGOS DELGADILLO

ASESORES: MVZ CARLOS VILLAGRAN VELEZ

MVZ JAIME ALONSO NAVARRO HERNANDEZ

MVZ FELIPE DE JESUS CORTES DELGADILLO





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.

b

## CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVOS	7
MATERIAL Y MÉTODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSIÓN	12
CONCLUSIONES	14
LITERATURA CITADA	15
CUADROS Y GRAFICAS	17

## RESUMEN

BURGOS DELGADILLO, JUAN MIGUEL. Caracterización de la concentración de eritropoyetina (EPO) en suero sanguíneo de yeguas de salto, en la ciudad de México, D.F. (bajo la dirección de MVZ Carlos Villagrán Vélez, MVZ Jaime Alonso Navarro Hernández y MVZ Felipe de Jesús Cortés Delgado)

La eritropoyetina (EPO) es una hormona que se produce principalmente en el riñón y tiene por acción el estimular la producción de eritrocitos. El presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización de la concentración de EPO en el suero sanguíneo de yeguas atletas de tres grupos de diferentes edades, así como su relación con hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht) y eritrocitos. Para la determinación se colectaron 2 muestras de sangre por animal en tubos con vacío, uno con EDTA y otro sin anticoagulante, esta muestra se usó para cuantificar la EPO mediante una técnica de RIA; mientras que para las pruebas de Hb, Ht y concentración de eritrocitos se utilizaron técnicas convencionales. Se emplearon 49 yeguas de las cuales 14 formaron el grupo de prepúberes (6 meses a 2 años), 21 yeguas el grupo de púberes (mayores de 2.0 años a 5.0 años) y 14 yeguas el grupo de adultas (mayores de 5.0 años a 10.0 años). Los resultados obtenidos para EPO entraron dentro de los valores citados por la literatura (0 a 9 U/L) aún cuando la variabilidad encontrada en este trabajo fue más estrecha (2.6 a 6.65 U/L), pese a que los parámetros restantes están dentro de los valores de referencia, tienden a estar dentro de los rangos máximos, lo cual puede sugerir que la altitud de la ciudad de México influye sobre algunos parámetros sanguíneos como el conteo de eritrocitos, la hemoglobina y el hematócrito de los sujetos estudiados.

## INTRODUCCIÓN

### CARACTERIZACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ERITROPOYETINA (EPO) EN SUERO SANGUÍNEO DE YEGUAS DE SALTO, EN LA CIUDAD DE MÉXICO D.F.

La existencia de un factor del crecimiento capaz de controlar la eritropoyesis, fue sugerida por primera vez por Paul Carnot en 1906, quien observó incremento en la cantidad de eritrocitos en conejos sometidos a inyecciones con suero obtenido de animales anémicos, con lo cual postuló la existencia de un factor estimulante al cual llamó *hemapoyetina*. Sin embargo no fue sino hasta los años 50 que Reissmann, Eslev y Jacobsen describieron el origen y la acción de una hormona glucoproteica, a la que renombraron *eritropoyetina (EPO)*. Subsecuentemente se desarrollaron nuevos experimentos con dicha hormona, sobre todo en pacientes humanos que presentaban anemia y eritrocitosis, lo cual culminó en 1977 con la purificación de la *EPO* a partir de la orina, por Miyake y colaboradores (1).

La *EPO* es un factor hematopoyético con peso molecular de 30,000 D, con 165 residuos de aminoácidos y cuatro cadenas oligosacáridas necesarias para su actividad *in vivo*. Se produce principalmente en las células peritubulares de la corteza renal, sin embargo también se pueden producir pequeñas cantidades en los hepatocitos que rodean la vena hepática central y existen evidencias de que ocurre una pequeña contribución adicional por parte de los macrófagos de la médula ósea, el cuerpo carotideo en gatos y los astrocitos (2,3,4,5). Durante la maduración final de la *EPO* ésta es glucosilada, lo cual se sabe, es importante para prolongar su vida media en la circulación, misma que es de 2.5 horas en ratas y de 7 a 10 horas en perros; sin embargo algunos autores mencionan que la glucosilación no es importante para aumentar su actividad biológica (6), en cambio otros han demostrado, experimentando con *EPO* derivada de *E. coli*, que la glucosilación es necesaria para que exista una completa actividad *in vivo*, así, la *EPO* deglucosilada, derivada naturalmente de *E. coli*, muestra muy baja actividad en animales (7, 8,9). Bajo ciertas condiciones como anemia o hipoxemia, la síntesis renal y la secreción de *EPO* puede aumentar hasta 100 % o más con respecto a la concentración basal, así se reconoce que en condiciones fisiológicas el estímulo primario para la producción de *EPO* es la hipoxia tisular renal resultante del decremento en la disponibilidad de oxígeno sanguíneo (1, 10).

Esta hormona incrementa la diferenciación, maduración y supervivencia de las células progenitoras de los eritrocitos, llamadas unidades formadoras de colonias eritrocíticas (CFU-E), así como la producción de hemoglobina (Hb). Este proceso puede ser interrumpido por enfermedad renal, alteraciones de la médula ósea, deficiencia de vitaminas, de hierro y de otros minerales (2,4).

Investigaciones recientes indican que la EPO puede promover la supervivencia *in vivo* de neuronas colinérgicas, lo que sugiere un papel importante de esta hormona en el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) (10). Diversos estudios *in vitro* sugieren que la EPO puede desempeñar un papel importante en la trombocitopoyesis, ya sea por inducir tanto la síntesis de ADN de los megacariocitos, como aumentar los procesos de formación citoplasmática y tener efecto sinérgico con la trombopoyetina para aumentar la proliferación de las CFU-Meg (unidades formadoras de megacariocitos) (11).

Con la clonación del gen para la EPO, se dispone de eritropoyetina humana recombinante (hrEPO), producida en células animales, la cual es útil para el tratamiento de anemia por insuficiencia renal crónica, así como para otras enfermedades (5). El receptor para la EPO es una proteína lineal con un sólo dominio transmembranal, de la super familia del receptor de citocina. El receptor tiene actividad de tirosina cinasa y activa una cascada de serina cinasas y treonina cinasas, y es capaz de producir crecimiento y desarrollo de células blanco (6).

La EPO parece que actúa con otros factores de crecimiento afectando la eritropoyesis, como es el factor de crecimiento de células madre (SCF), factor de crecimiento tipo insulina 1 (IGF-1), el cual induce la liberación de EPO, la interleucina 3 (IL-3), interleucina 9 (IL-9) y el factor estimulante de colonias de los macrófagos (MG-CSF), la hormona del crecimiento (STH), así como las hormonas sexuales, preferentemente los andrógenos, factores que son conocidos como sustancias eritropoyéticas y que en conjunto aseguran la extensión y maduración de los eritrocitos inmaduros (14,15). Otros factores que parecen estimular la eritropoyesis son las prostaglandinas (PG), tanto la PGE<sub>1</sub> como la PGE<sub>2</sub>; también se ha demostrado que la administración de ácido araquidónico, que es precursor de las PG, estimula la producción de EPO (16).

Por el contrario, existen factores que al parecer frenan la eritropoyesis como la interleucina 1 (IL-1), la interleucina 2 (IL-2), el factor de necrosis tumoral (TNF), el interferón y el factor de crecimiento tumoral (TGFb) (17).

La diferenciación de células germinativas eritrocíticas a partir del estadio primitivo hasta que alcanzan el estadio de células progenitoras eritrocíticas maduras, se caracteriza, por una disminución en el requerimiento de factores promotores de maduración eritrocítica y por la dependencia de EPO para la maduración. La acción de la EPO en la célula germinativa eritrocítica madura está mediada por la unión con los receptores específicos en la superficie celular (6). La razón más común para la inadecuada producción de eritrocitos se debe a insuficiencia renal crónica y/o afecciones de médula ósea, y como motivo más frecuente para una inadecuada cantidad de eritrocitos en la sangre están hemorragias crónicas o agudas, como en el caso de úlceras gástricas en caballos, los que pueden manifestar cierto grado de anemia debido a hemorragias en el estómago (2,3,6).

En caballos atletas es importante el análisis hematológico, el cual da una imagen de la condición de salud y permite evaluar alteraciones en la misma y el grado de ejercicio que puede ser efectuado por los mismos. Algunos de los parámetros hematológicos que frecuentemente se evalúan son: hematócrito, conteo de eritrocitos y concentraciones de hemoglobina, ya que estos pueden variar por la edad del animal y tal alteración puede influir en la concentración de EPO, es necesario evaluar que estos parámetros estén dentro de los rangos de referencia (7,8). Tales parámetros pueden variar por la edad del animal, la raza y el fin zootécnico, entre otras circunstancias. Los rangos de referencia para estos se han desarrollado por muestreo de gran número de caballos clínicamente sanos en los EUA y los resultados compilados se consideran como estándares (4,10).

Algunos entrenadores de caballos de carreras utilizan regularmente la determinación de los valores sanguíneos de Hb, Ht y concentración de eritrocitos, como una medida del desarrollo y rendimiento de los animales, por lo que se ha considerado que la concentración de hemoglobina entre 160 a 180 g/L de sangre es la deseable para el desempeño físico óptimo durante la competencia. Sin embargo, esto tiene algunas limitaciones, por que a partir del bazo y los pulmones, tanto durante el ejercicio como en el estrés, como al que puede estar sometido el animal durante alguna manipulación no rutinaria para él (obtención de muestra sanguínea) se movilizan grandes cantidades de eritrocitos hacia la circulación, se considera que dicha movilización puede incrementar, en gran medida, la capacidad de los caballos para transportar oxígeno en la sangre y esto contribuye a aumentar su rendimiento atlético (6,9).

Con la finalidad de aumentar el rendimiento físico de los caballos, se les aplican compuestos hematínicos (estimulantes de la eritropoyesis) de composición variable, pero en la mayoría de ellos el hierro es el principal elemento, con menores cantidades de cobre, zinc y vitaminas del complejo B. Debido a que no existen evidencias de que los compuestos hematínicos puedan estimular la producción de eritrocitos en animales sin deficiencias de vitaminas o minerales, es equivocado pensar que puedan aumentar el transporte de oxígeno hacia los músculos y por ende el desarrollo físico (9,19,23,24)

Existe, el interés médico veterinario en conocer otras sustancias que sean capaces de aumentar la producción de estas células sanguíneas; entre ellas la eritropoyetina recombinante humana (rhEPO), que ha sido utilizada como agente dopante en humanos y quizá también en caballos. Esta parece incrementar la concentración de hemoglobina, el transporte de oxígeno, el poder aeróbico y el desarrollo físico del animal (7,20,21). Además se sabe que tiene efectos adversos graves como producir anemia inmunomediada y la muerte (10,22). La farmacocinética y los efectos farmacológicos de la rhEPO están bien estudiados en humanos (11), ratas, ratones, conejos, borregos y perros (5), pero no así en especies equinas (5,11).

El diagnóstico de dopaje por rhEPO es difícil, debido a que esta sustancia es idéntica a la eritropoyetina producida por el organismo. Hasta el momento no existen pruebas adecuadas para detectar su uso ilícito, sin embargo, existe interés en el desarrollo de dichas pruebas. Estudios recientes demostraron que los tratamientos de corta duración con la hormona (50 UI/kg tres veces a la semana, por tres semanas), incrementaron de 10 a 12% el volumen máximo de oxígeno en hembras criadas de forma convencional, lo que puede resultar en aumento de su rendimiento físico (7,11,12, 25).

Establecer la cantidad normal de esta EPO en plasma, determinándola en grupos de edad, así como por sexo y tomando en cuenta las variables ambientales, nutricionales y de raza que pudieran influir sobre la producción de la hormona, relacionándola con parámetros sanguíneos básicos como son hematócrito, hemoglobina y cantidad de eritrocitos. Pudiera ser de utilidad para determinar de manera indirecta el dopaje por EPO.



## JUSTIFICACIÓN

Como expectativas el presente estudio, pretendió obtener la concentración de EPO en yeguas de diferentes edades y compararla entre estos grupos, bajo el supuesto de que los animales prepúberes y puberes al producir mayor cantidad de factores de crecimiento, que estimulan la eritropoyesis, presentan concentraciones más bajas de EPO que los adultos, a pesar de lo cual sus valores de Hb, Ht y eritrocitos serían semejantes entre los tres grupos como también semejantes a los valores de referencia.

## OBJETIVOS

1. Determinar las concentraciones de EPO en suero sanguíneo, de yeguas atletas de salto de 6 meses a 10 años de edad, con la finalidad de obtener valores de referencia en la ciudad de México.
2. Determinar la relación entre la concentración basal de EPO y el hematócrito, concentración de Hb y el número de eritrocitos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 49 yeguas de la raza "*Harm Blood*", clínicamente sanas (sin trastornos patológicos aparentes, y sin estar sometidas a tratamiento alguno), no gestante, las cuales fueron distribuidas, en tres grupos.

Grupo A) 14 prepúberes de 6 meses a 2.0 años.

Grupo B) 21 púberes de >2.0 a 5.0 años.

Grupo C) 14 adultas de >5.0 a 10 años.

Los animales prepúberes incluidos en el estudio fueron traídos del criadero de la Secretaría de la Defensa Nacional (SEDENA) localizado en el estado de Chihuahua por lo menos 3 meses antes de la toma de muestras. Los animales de los dos grupos restantes radicaban en la Cd. de México desde hacía 6 meses o más antes de iniciado el estudio.

Los animales fueron alojados en las cuadras del agrupamiento de promoción deportiva del Estado Mayor Presidencial y en caballerizas de la villa ecuestre del Ejército Nacional, ambas localizadas al noroeste de la Ciudad de México, con una altitud de 2300 msnm, precipitación pluvial anual de 787.6 mm y temperatura media anual de 15.6 °C; la temperatura dentro de las caballerizas es la misma que la ambiental.

Las caballerizas son individuales, con un espacio promedio de 16 m<sup>2</sup>. La alimentación se controla de la siguiente forma: a las 3:00 h del día se les proporciona 2.5 Kg. de avena rolada; a las 11:00 h 2.0 Kg. de alfalfa achicalada; a las 15:00 h 3.0 Kg. de avena en greda; a las 17:00 h 2.5 Kg. de avena rolada y a las 20:00 h 3.0 Kg. de avena en greda. El agua se proporciona 2 veces al día en cubetas con capacidad de 18.0L, cada vez que se ofrece agua se recambia en forma total.

De cada animal se obtuvieron dos muestras de sangre de 10 mL, de la vena yugular, previa desinfección del área de punción. Las muestras se colectaron en tubos al vacío con aguja de 32 mm de largo, de calibre 20, con EDTA que fueron empleadas para la determinación de la concentración de Hb, cantidad de eritrocitos y hematocrito. La muestra del otro tubo, sin anticoagulante y con un gel activador de la coagulación, fue utilizada para la determinación de EPO.

La determinación de Hb y el conteo de eritrocitos se efectuó por espectrofotometría<sup>1</sup> y conteo directo<sup>2</sup>, respectivamente. El hematócrito fue determinado manualmente por la técnica de microhematócrito<sup>3</sup>. Para la determinación de EPO se utilizó un KIT DSL-1100 RIA<sup>4</sup>. Con este equipo, la EPO inmunorreactiva del suero se relaciona bien con la EPO biológicamente activa. Las determinaciones se efectuaron en los laboratorios de Diagnóstico en Salud Animal (DIAGSA) de la Ciudad de México, D.F.

Como parte de la valoración clínica, tras la determinación de la Hb, Ht y concentración de eritrocitos los valores obtenidos fueron comparados con los rangos de referencia (Cuadro I) los animales cuyos valores se encontraran fuera de los rangos de referencia se eliminarían del estudio, sin embargo cabe señalar que no se encontró ningún caso de este tipo.

#### Análisis estadístico

1. Caracterización estadística básica por grupos de edad: promedios, desviaciones estándar, máximos y mínimos y diferencias entre promedios de grupos.
2. Se obtuvieron las medidas de asociación entre EPO vs: edad, Hb, Ht y cuenta de eritrocitos, así como estimación de intervalos de confianza del 95% para el promedio de cada grupo de edad
3. Se efectuó análisis de regresión y de correlación para determinar las asociaciones propuestas anteriormente, con un nivel de significación de  $\alpha = 0.05$ .

<sup>4</sup> Según técnica de Diagnostic System Laboratories Inc. (DSL).

\* El tamaño de la muestra, fue calculado con base en un muestreo, estratificado con asignación proporcional a los estratos, a partir de una población de 70 hembras (20 de 0 a 2 años, 30 de 2 a 5 años y 20 de más de cinco años), con un error estimado de 8 a 9% de la media (3.7 = 2.1 mU/ml) de una muestra piloto de 22 animales (2/5).

<sup>1</sup> Según técnica de Hemoglobinometer Coulter Electronics Inc. Hialeah, Florida USA.

<sup>2</sup> Según técnica de Contador de eritrocitos Coulter Electronics Inc. Model M1R MCV/lcr/RHC, Hialeah, Florida USA

<sup>3</sup> Según técnica de microhematócrito Sol - Bat Aparatos científicos México.

<sup>4</sup> Según técnica de Diagnostic System Laboratories Inc. (DSL).

## RESULTADOS

Las cuatro variables en estudio (Hb, Ht, eritrocitos, EPO) se sometieron a comprobación de los supuestos básicos de normalidad y de homogeneidad de varianzas. El cual se cumplió en las variables Hb ( $W=0.98$ ;  $p=0.89$ ) y Ht ( $W=0.97$ ;  $p=0.30$ ), no así en eritrocitos ( $W=0.90$ ;  $P=0.0003$ ), ni en EPO ( $W=0.93$ ;  $P=0.009$ ).

Éstas dos últimas se sometieron a transformación por el proceso Box Cox para intentar su ajuste a la distribución normal, lo cual sólo se consiguió para la concentración de eritrocitos ( $W=0.97$ ;  $p=0.52$ ), misma que se empleó para el análisis, no así para EPO ( $W = 0.93$ ,  $p= 0.00$ ).

Para las variables Hb, Ht y eritrocitos se realizó análisis de varianza de un factor para evaluar el efecto de la edad sobre éstas, encontrándose que no tuvieron diferencias significativas en la relación mencionada anteriormente. Es decir que la edad en los animales no constituye un factor influyente sobre el Ht ( $F_{2,46} = 0.200$ ;  $P = 0.818$ ), Hb ( $F_{2,46} = 0.296$ ;  $P = 0.745$ ) y eritrocitos ( $F_{2,46} = 0.285$ ;  $P = 0.753$ ).

En el caso de la EPO, al no cumplir el supuesto de normalidad ni poderse transformar la variable, los datos se analizaron por medio de la prueba de sumas de rango de Wilcoxon / Kruskal - Wallis para comparar las diferencias entre los grupos de edad, no encontrándose diferencias significativas entre estos ( $H = 25.717$  con 2 grados de libertad ;  $P=0.0001$ )

Después de esta prueba se realizó la prueba de Dunn de comparaciones múltiples entre sumas de rangos, observándose diferencias significativas en la EPO entre los animales prepúberes y adultos ( $Q = 4.643$ ;  $P < 0.05$ ) y entre púberes y adultos ( $Q = 4.250$ ;  $P < 0.05$ ), no así entre prepúberes y púberes ( $Q = 0.836$ ;  $P > 0.05$ ).

De los resultados obtenidos por grupo y por parámetro se cita a continuación el promedio de cada uno, más detalles se pueden ver en el cuadro 2.

Prepúberes, Hemoglobina 120.135 g/L, Hematócrito 0.367 L/L, Eritrocitos  $7.542 \cdot 10^{12}/L$ , EPO 6.655 U/L.

Púberes, Hemoglobina 120.1252 g/L . Hematócrito 0.373 L/L, Eritrocitos  $7.304 \cdot 10^{12}/L$ ,  
EPO 5.969 U/L.

Adultos, Hemoglobina 120.485g/L , Hematócrito 0.367 L/L, Eritrocitos  $7.435 \cdot 10^{12}/L$ , EPO  
2.6 U/L.

## DISCUSIÓN

La determinación de los valores de eritropoyetina (EPO) se ha facilitado con la disponibilidad y adecuación de métodos específicos como el RIA (radio inmuno análisis), empleado en el presente trabajo. A diferencia de los métodos biológicos, este procedimiento de laboratorio permite detectar cantidades muy pequeñas de EPO, con una mayor sensibilidad.

En este caso, la caracterización de la concentración de EPO y sus relaciones con otros parámetros sanguíneos es útil para tener los valores de referencia de los mismos, bajo las condiciones ambientales de la Ciudad de México, lo cual posibilitaría determinar los casos de dopaje con EPO, además de que será de utilidad para diagnosticar de forma diferencial patologías en las que se ve comprometida la producción de eritrocitos, como en los casos de anemia aplásica y anemias hemolíticas. También podrá servir de referencia en el estudio de la eritrocitosis primaria en donde la concentración plasmática de EPO se encuentra disminuida, a diferencia de la secundaria, en la cual aumenta.

No existe información sobre la concentración sérica de EPO en caballos localizados en la ciudad de México, situada a 2,240 m sobre el nivel del mar y de su relación con la Hb, Ht y concentración de eritrocitos. Lo anterior es importante porque se sabe, que al menos los valores de referencia de la fórmula roja, varían de acuerdo con la altura en la que se encuentra la población estudiada.

En caballos atletas, es importante la evaluación frecuente de algunos parámetros sanguíneos, lo cual se logra por la medición de hematócrito (Ht); conteo de eritrocitos y hemoglobina (Hb), los que se pueden modificar por condiciones nutricionales o ambientales, razas (frías o calientes), fin zootécnico y otras condiciones. Para poder establecer los valores de referencia de los parámetros mencionados, muchos laboratorios del mundo han muestreado y analizado muchos animales creando rangos los cuales son citados para compararlos con los obtenidos en este trabajo (cuadro 2). Así se puede mencionar que para los tres grupos de edad en los que se dividió la muestra experimental, los niveles de Hb se encontraron dentro de los parámetros informados, sin embargo las diferencias entre los valores máximos y mínimos de los grupos A y B fueron muy pequeñas comparadas con las reportadas y con el grupo C. Los promedios y desviaciones estándar de los tres grupos se mantuvieron muy cercanos entre sí y diferentes a los citados en la literatura (26) 122.912

$\pm 12.304$  vs  $107.000 \pm 11.500$  g/L, sin importar que los adultos tienen un metabolismo más lento y los prepúberes un metabolismo más rápido.

Para el Ht, no se observaron diferencias significativas entre los tres grupos de animales, prueba de Tukey-Kramer ( $p < 0.05$ ). Igual que en el caso de Hb, se encontró que las diferencias entre valores máximos y mínimos fueron más pequeñas que las citadas en la literatura como valores de referencia. Los valores máximos de los tres grupos son mayores que el máximo reportado (26) para hembras, sin embargo, cabe señalar que en los valores reportados no se especifican las edades de los animales. Al comparar el promedio de los tres grupos A 0.367 L/L; B 0.373 L/L y C 0.367 L/L contra el único valor de referencia especificado en hembras 0.316L/L (26), se observan diferencias que podrían encontrar su explicación en el efecto que la altura de la ciudad de México tiene sobre la producción de eritrocitos, y en la cual normalmente en todas las especies, incluyendo al humano, se presenta una eritrocitosis fisiológica "compensatoria" a la disminución en la presión de oxígeno atmosférico, lo cual altera la hematosis.

Al analizar el conteo de eritrocitos en los tres grupos, entre los cuales no se observaron diferencias significativas ( $F_{2,46}=0.285$ ;  $p = 0.753$ ) y al comparar con los valores citados en la literatura, se encontró que los promedios de los tres grupos son más altos que los descritos para hembras (26), en cuanto a los valores mínimos, estos se encuentran en general más bajos y al comparar los valores máximos obtenidos para animales prepúberes y jóvenes se encontró que estos son mayores, situación que podría encontrar su explicación en la sustentación hecha para la variable hematócrito.

En cuanto a la variable EPO, los valores de los tres grupos de estudio se encuentran entre los reportados en la literatura (0 a 9 U/L) (18) sin embargo es importante mencionar que se observó una reducción gradual en las concentraciones de EPO con el aumento de edad, por otro lado esta disminución no afecta los otros parámetros medidos (gráficas 1,2 y 3), lo cual podría indicar que tal vez el estímulo para la producción de eritrocitos y hemoglobina en animales adultos (grupo C de este trabajo) no sea principalmente EPO si no que las hormonas reproductivas (estrógenos y progesterona principalmente) pudieran reemplazar la señal.



### CONCLUSIONES

Los valores de Hb, Ht, eritrocitos y EPO determinados en el presente trabajo resultaron semejantes a los informados en la literatura encontrándose dentro de los valores mayores, lo cual sugiere que la altitud de la ciudad de México influye sobre los parámetros sanguíneos de los sujetos estudiados.

En otro sentido, se considera necesario efectuar otro estudio en el cual las edades de los animales, sobretudo del grupo de animales adultos, se ajusten a diferencias por años, esto con la finalidad de dar seguimiento a la posible relación entre los valores de hormonas reproductivas y la concentración de EPO.

## LITERATURA CITADA.

- 1.-Hardman JG, Goodman Gilman's A, Limbird LE, Goodman and Gilman's. The pharmacological Basics of Therapeutics 9 edición McGraw-Hill, México D.F. 1996.
- 2.-Jelkam W. Renal erythropoietin: properties and production. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1989; 104:139-215.
- 3.- Jelwam W. Erythropoietin; structure, control of production and function. *Physiol Rev* 1992; 72 (2) 449-489
- 4.-Stoudemire JB. Pharmacokinetics and metabolism of hematopoietins. In *Protein: Protein Pharmacokinetics and Metabolism* Plenum New York 1992: 189-2228.
- 5.-Matsuda J., Gotoh M., Gohchi K., Insytemic lupus erythematosus antibodies. *Eur. J. Haematol* 1994; 52: 311-314.
- 6.-Dra.SusanaSfaiello.Farmacos Hematopoyeticos [http://orbita.starmedia.com/~forobioq/art\\_hematopo.html](http://orbita.starmedia.com/~forobioq/art_hematopo.html) 11 febrero 2003.
- 7.-Krantz, S.B. Erythropoietin receptor activacion by a ligand - induced. *Blood* (1991) 77: 419
- 8.-Sasaki, H. et. Al Identification of the probable inhibitory reactive site of the cysteine proteinase inhibitors human cystein C and chicken cystatin *J.Biol. Chem* (1987) 262: 12059
- 9.-Dorsal, M.S. et al . Synergistically with the erythropoietin hormone. *Endocrinology* (1985) 116: 2293
- 10.-Erythropoietin R&D Systems [www.rndsystems.com/asp/c\\_sitebuilder.asp?bodyId=197](http://www.rndsystems.com/asp/c_sitebuilder.asp?bodyId=197) enero 2003
- 11.-Broudy, V.C. et al.Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor and IL-11 to enhance murine megakaryocyte colony growth and increases megakaryocyte ploidy in vitro. *Blood* (1995) 85:1719
- 12.-Woodman DD. Laboratory animal endocrinology. John Wiley & Sons, Ontario Canada 1997.
- 13.-Ganong W. Fisiología Médica. 17ª edición Manual Modemo, México D.F. 2000.
- 14.-Muta, K. et al. The regulation of human hematopoietic J.Cli.. *Invest* (1994) 94: 320-327
- 15.- Alvarez A. MV, MA Castilla, FR Gonzales P., Role of vascular endothelial growth factor on erythropoietin related endothelial cell proliferation . *JASN* 1998; 9: 1998-2004.
- 16.-Paulo L. G., Wilkerson R.D., Roh b.J., GeorgeW.J., and Fisher J.W. The effects of prostaglandin E. on erythropoietin production. *Proc. Soc. Exp. Biol Med.* 1973;142: 771-775

- 17.-Boyer H., Terry R. Bishop, Ophelia C. Rogers, Andrea N.oyes. Roles of Erythropoietin, Insulin-like Growth Factor I and unidentified serum factor in promoting maturation of purified murine erythroid Colony-Forming Units. *Blood* 1992;80:2503-2509.
- 18.-Jaussaud P,Audran M, Gareau. Kinetics and haematological effects of erythropoietin in horses. *Vet Res* 1994; 25: 566-573.
- 19.-Lawrence LM; Ott, E.A; Asquit, R.L.; Miler GJ. Influence of dietary iron grow, tissue mineral composition, apparent phosphorus absorption, and chemical properties of bone. In Proceeding of the 10 The Equine Nutrition and Physiology Society Symposium, Lexington Ky 1987 ;563-561.
- 20.-Geor RJ. Sports medicine: Blood Builders [www.thehorses.com/0012/sports\\_medicine.html](http://www.thehorses.com/0012/sports_medicine.html) 10/12/2001
- 21.- Dr. Barragry. Drugs, doping and current sporting problems: *Iris Jomal* 2000; 53 (6)
- 22.-Cris King "Ask the Vet" Archives EPO(erythropoietin) [www.paper-horses.com/asktlievet/epo.htm](http://www.paper-horses.com/asktlievet/epo.htm) 01/12/2001
- 23.-Schalm O.W. Hematología Veterinaria.1er edición en español Hemisferio Sur, Buenos Aires Argentina 1981.
- 24.-Carsol GP. Hematology and body fluids in the equine athlete: A review. In Gillespies J.R. and Robinson Equine exercise physiology 2 ICEEP Publications 1987 393-425.
- 25.-Carsol GP. A survey of the iron status of thoroughbred horses in race training. In Proceedings of the 10 th Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine, San Diego Cal. 1992; 448-449
- 26.-Mitruka, Brij M. Clinical biochemical and hematological refence values in normal experimental and normal humans 1977. 1981 by Masson Publishing USA, Inc "
- 27.-Duncan J.R., Prasse K. W., Mahaffey E. A. Veterinary laboratorii medicine: clinical pathology. Printed on acid-free paper in the United States of America 3er edition 1994 235-238.
- 28.- Nemi C.Jain Essential of veterinary hemalogy Lea & febiger in the United states of America 1993 19-28.
- 29.-Scalm, Oscar W., 1909 Veterinary hematology. Lea&Febiger. in the United States of America 1975 163-166.
- 30.-Ivy F.S. The merck veterinary manual .INC. Philadelphia, Pennsylvania 1998 2189-2196.

## SECCIÓN DE CUADROS, DIAGRAMAS Y GRAFICAS

Cuadro 1. Valores de referencia en caballos para conteo de eritrocitos, hemoglobina y hematócrito (27,28,29,30).

Autor	Grupos	Eritrocitos ( $10^{12}/L$ )	Hemoglobina g/L	Hematócrito L/L
Mitraka B.M	Machos	8.30-10.5 <sup>1</sup>	81.0-141.	0.264-0.404
		9.40±0.55 <sup>2</sup>	111 ± 15	0.334 ± 0.035
	Hembras	6.08-8.92 <sup>1</sup>	84.0-130	0.268-0.364
		6.50 ± 0.21 <sup>2</sup>	107 ± 11.5	0.316 ± 0.242
Duncan J.R	-	6.0-10.43 <sup>1</sup>	101-161	0.270-0.430
Jain N.C;	-	6.8-12.9 <sup>1</sup>	110-190	0.320-0.530
Schalm O.W	Hot Blooded	9.0 ± 1.2 <sup>2</sup>	144 ± 17	0.410 ± 0.045
Ivy Fleck S. manual merck		6.0-12.0 <sup>1</sup>	100-180	0.320-0.480

<sup>1</sup> Valores mínimos - máximos.

<sup>2</sup> Promedio aritmético ± desviación estándar

Cuadro 2. Valores para Hb, Ht, Eritrocitos y EPO en yeguas de distintas edades de la raza "Warm Blood" en la ciudad de México, DF.

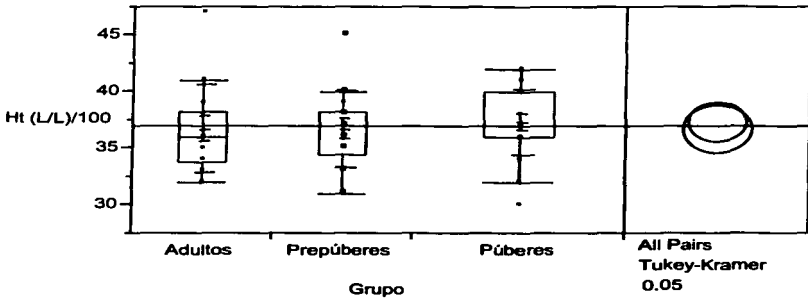
Edad (grupo)	Variable	N	Promedio	Desviación estándar	IC(95%)	Mínimo	Máximo
Prepúberes (≤ 2 años) (a)	Hemoglobina (g/L)	14	121.357	10.867	115.08, 12.763	103.00	148.00
	Hematócrito (L/L)		0.367143	0.0340652	0.34747, 0.38681	0.31000	0.45000
	Eritrocitos ( $10^{12}/L$ )		7.54286	2.00527	6.3850, 8.7006	5.100	11.200
	EPO (U/L)		6.655	1.57563	5.7452, 7.5647	4.9100	9.1300
Púberes (2 ≤ 5 años) (b)	Hemoglobina (g/L)	21	122.524	11.9776	117.07, 127.97	90.00	140.00
	Hematócrito (L/L)		0.373333	0.0293825	0.35995, 0.38670	0.30000	0.42000
	Eritrocitos ( $10^{12}/L$ )		7.30476	1.78871	6.4905, 8.1189	5.300	12.000
	EPO (U/L)		5.96905	1.48034	5.2952, 6.6428	3.7500	9.8200
Adultos (> 5 años) (c)	Hemoglobina (g/L)	14	124.857	14.0705	116.73, 132.98	105.00	156.00
	Hematócrito (L/L)		0.367143	0.0395024	0.34433, 0.38995	0.32000	0.47000
	Eritrocitos ( $10^{12}/L$ )		7.43571	0.92288	6.9028, 7.9685	5.6000	8.9000
	EPO (U/L)		2.6	1.09788	1.9661, 3.2338	1.9000	5.3400

IC(95%). Intervalo del 95% de confianza para el promedio.

<sup>1</sup> Valores mínimo - máximo.

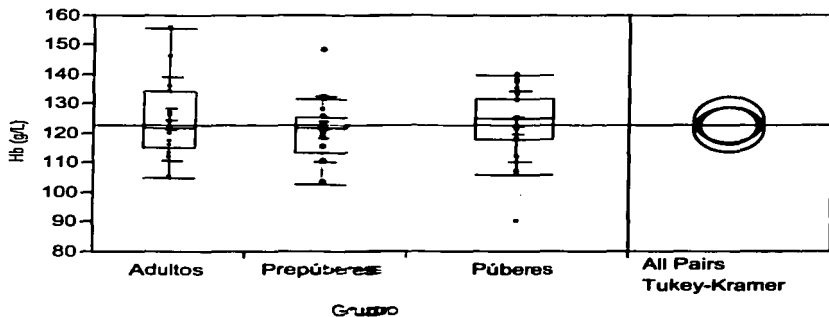
<sup>2</sup> Promedio aritmético ± desviación estándar.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

**Diagrama de análisis de Ht por grupo según la prueba de Tukey - Kramer**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

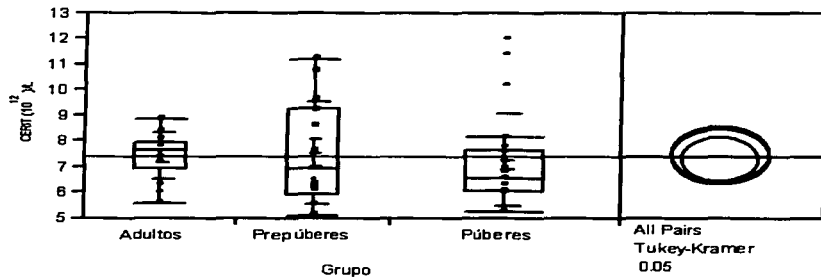
Diagrama de análisis de Hb por grupo según la prueba de Tukey-Kramer



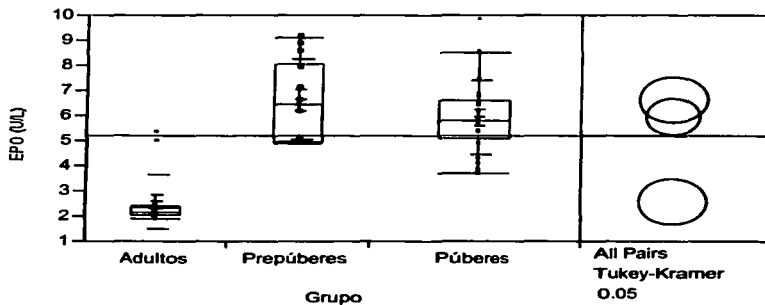
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Diagrama de análisis de [eritrocitos] por grupo según la prueba Tukey- Kramer

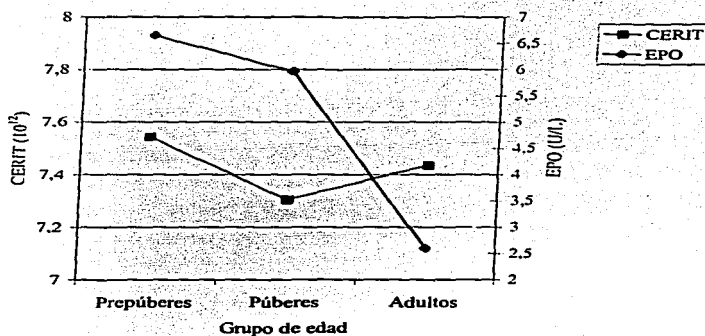


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Diagrama de análisis de EPO por grupo según la prueba de Tukey-Kramer**

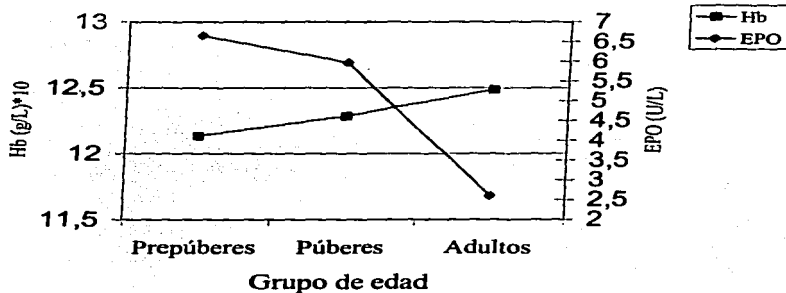
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Gráfica 1. Concentración media de EPO y eritrocitos en yeguas de tres grupos de edad



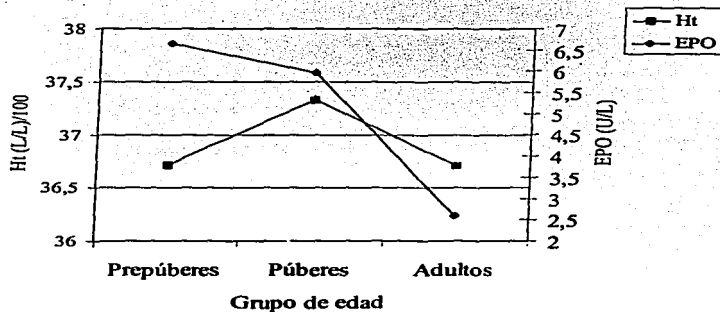
**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Gráfica 2. Concentración media de EPO y Hb en yeguas de tres grupos de edad



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Grafica 3. Concentración media de EPO y Ht en yeguas de tres grupos de edad



FALTA DE ORIGEN  
TESIS CON