

Modificaciones del leucograma en terneros cruza cebú precozmente destetados*

Coppo, J.A.; Coppo, N.B.; Revidatti, M.A.; Capellari, A.

Cátedras de Fisiología y Zootecnia General, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 54-03783-425753, E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

Resumen

Coppo, J.A.; Coppo, N.B.; Revidatti, M.A.; Capellari, A.: Modificaciones del leucograma en terneros cruza cebú precozmente destetados. El propósito de este trabajo fue verificar si los cambios del leucograma de terneros sometidos a destete precoz se debían a estrés, alarmas simpáticas y/o razones ontogénicas. En 4 años sucesivos se realizaron ensayos de 4 meses de duración que involucraron un total de 60 animales experimentales, separados de sus madres a los 60-75 días post-parto y suplementados con alimento balanceado. Otros 60 ejemplares operaron como testigos en lactación al pie de madre, sobre pastura natural. Bajo un diseño de medidas repetidas, ambos lotes fueron objeto de pesajes y extracciones de sangre a los 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 y 120 días. Los terneros destetados revelaron ($p < 0,05$) menores pesos finales que los controles ($139,4 \pm 11,6$ versus $158,7 \pm 11,7$ kg) y mayores tasas de leucocitos totales ($12,08 \pm 1,08$ versus $9,76 \pm 0,90$ G/l), neutrófilos ($4,12 \pm 0,59$ versus $3,78 \pm 0,59$ G/l) y linfocitos ($7,26 \pm 0,95$ versus $5,39 \pm 0,76$ G/l). Todos los parámetros estudiados variaron en función del crecimiento, aumentando neutrófilos y eosinófilos, con disminución de leucocitos totales, linfocitos y monocitos, cambios que correlacionaron significativamente con el peso. Las modificaciones se atribuyen a ontogenia y alarmas simpáticas, pero no a estrés.

Palabras clave: terneros, destete precoz, leucocitos, alarma simpática, estrés.

INTRODUCCION

Leucograma es el conjunto de pruebas de laboratorio que informan sobre la cantidad y calidad de los glóbulos blancos circulantes en sangre. En Hematología constituye una herramienta imprescindible para tipificar infecciones e inflamaciones, pues permite diferenciarlas en agudas y crónicas, brindando también pistas sobre probables etiologías tóxicas, neoplásicas, metabólicas, alérgicas, parasitarias y endocrinológicas (influencias hormonales)^{3, 8, 17, 18, 20}.

Entre las hormonas capaces de modificar el leucograma se encuentran las catecolaminas (*alarma simpática*) y los glucocorticoides (*estrés*), términos sobre los cuales pesa cierto grado de confusión, a punto tal que a veces se emplean como sinónimos. Para su correcta delimitación, debería tenerse en cuenta que la primera de ellas enmarca en el *síndrome de lucha y fuga* (Cannon 1923), fugaz reacción de urgencia (fisiológica) que involucra la *médula adrenal* (adrenalina), en tanto que el segundo lo hace en los términos del *síndrome general de adaptación, estrés* (Selye 1936), proceso más duradero que compromete la *corteza adrenal* (cortisol,

aldosterona), cuyo fracaso implica el deterioro del estado de salud^{1, 16, 21, 35}.

Los glóbulos blancos aumentan su concentración en ambos síndromes, pero mientras que en la alarma simpática lo hacen a expensas de todos los tipos leucocitarios, en el estrés se elevarían solamente los neutrófilos, disminuyendo linfocitos y eosinófilos^{3, 5, 8, 17, 18, 20, 21, 32, 33, 36}. Tales modificaciones serían pasajeras en las alarmas simpáticas (“leucocitosis fisiológicas”), perdurando de 30 minutos¹⁹ a una hora⁴, pero más prolongadas en el estrés, debido a que en el intento de resistir a una noxa, las secreciones de ACTH y corticosteroides serán sostenidas, perdiéndose el ritmo nictameral^{5, 16, 35}. Estos cambios serían muy marcados en carnívoros pero poco pronunciados en rumiantes¹⁹.

El *estrés del destete precoz* ha sido imputado como responsable de las menores ganancias de peso que revelan los terneros sometidos a este manejo, con relación a los mantenidos en lactación al pie de madre^{7, 15, 26, 29}. El síndrome potenciaría negativamente los desbalances nutricionales debidos al brusco cambio de dieta^{2, 11, 28}.

Estas aseveraciones parecerían no avanzar más allá del terreno de las conjeturas pues no estarían avaladas por suficiente evidencia experimental. En la opinión de prestigiosos autores “*poco se sabe del estrés del bovino*”³⁶ y “*mucho queda por aclarar respecto a los desbalances nutricionales del estrés*”²⁶. Si bien el destete

* Proyecto “Impacto del destete precoz sobre el medio interno de terneros cruza cebú” (CONICET, PIP 577/98 y SGCYT-UNNE, PI 377/97).

precoz provocaría efectos benéficos sobre los vientres (peso, condición corporal, función reproductiva), su impacto negativo sobre la velocidad de crecimiento del ternero aún no pudo ser superado^{6, 30, 37}. Disponer de tales conocimientos posibilitaría la instauración de medidas tendientes a neutralizar el estrés y/o optimizar selectivamente la dieta de los animales.

Con el propósito de elucidar si las razones del retraso ontogénico responden a estrés, alarma simpática o subnutrición, hace algunos años comenzamos una investigación que involucró el estudio del medio interno de terneros destetados y controles en lactación. En esta comunicación se abordarán los cambios detectados en los parámetros sanguíneos de la serie blanca (leucograma), con algunas menciones de lo acontecido en el contexto global.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon terneros cruza cebú de 60–75 días de edad y 60–90 kg de peso (50% hembras y 50% machos castrados), clínicamente sanos y fenotípicamente homogéneos, criados sobre pastura natural (con predominio de gramíneas perennes de ciclo estival, 6% proteína bruta), en un establecimiento ganadero del noroeste de la Provincia de Corrientes. Se efectuaron cuatro ensayos anuales sucesivos (desde noviembre/diciembre hasta marzo/abril) bajo un diseño prospectivo de medidas repetidas en el tiempo, reuniéndose datos de un total de 120 animales (randomizados en 60 experimentales y 60 controles), distribuidos a razón de 30 por cada año (15 réplicas lactantes y 15 destetadas).

Los testigos se mantuvieron en lactación al pie de madre (lote L) hasta la fecha de destete convencional y los experimentales fueron sometidos a destete precoz (lote D), suplementando su alimentación con un balanceado comercial que contenía 16% de proteína bruta, 7% de fibra cruda, 4% de extracto etéreo y EM = 2,77 Mcal/kg MS, administrándose inicialmente a razón del 1,5% PV decreciendo luego en función al progresivo incremento del consumo de pastura (final: 0,7% PV).

Los controles se efectuaron con periodicidad semanal durante el primer mes y continuaron luego cada 30 días. Consistieron en pesajes y extracciones de sangre efectuadas en ocho oportunidades (días 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 y 120). Las pruebas hematológicas y bioquímicas (41 determinaciones) se planificaron para detectar estrés y verificar estado metabólico–nutricional, e incluyeron dosajes de hormonas y parámetros del proteinograma, lipidograma, glucograma, enzimograma, ionograma, eritrograma y leucograma.

En la presente comunicación describiremos los resultados del último conjunto de datos. La concentración de leucocitos totales se obtuvo por método electrónico en un autoanizador hematológico Sequoia–Turner, con reactivos Wiener Lab. El recuento diferencial (fórmula leucocitaria) se efectuó por microscopía a partir de frotis coloreados según Giemsa (Biopur), contabilizando 200 elementos con el auxilio de un contador Bites–Hem provisto de microprocesador para conversión de valores absolutos a porcentuales. No se tomaron en cuenta los casi inexistentes basófilos porque su carácter de *variable dependiente cuantitativa discreta (casi cualitativa)* hubiera requerido un cambio de diseño (estadísticas no paramétricas).

El procesamiento estadístico se efectuó informáticamente (*softwares Statistix 1996 y Statistica 1999*). Previa corroboración de la normalidad distributiva (Wilk–Shapiro, WS) se aplicaron estadísticas descriptivas paramétricas (media aritmética, desvío estándar e intervalos de confianza, IC±95%). Mediante técnicas univariadas se efectuó análisis de la variancia para medidas repetidas (Anova), obteniéndose la significación de los efectos tratamiento y tiempo, así como la interacción entre ambos. Post–Anova se realizaron tests de comparaciones de medias (Tukey HSD) y análisis de la covariancia (año de ensayo, clima, pasturas). El grado de asociación lineal entre las distintas variables dependientes fue evaluado por correlación (Pearson). Para todas las inferencias se estipuló un $\alpha = 5\%$, por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad entre tratamientos.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran los datos obtenidos en ambos lotes, restringiéndolos a valores iniciales y finales por razones de espacio. Se desprende que en el arranque, todos los terneros acusaron valores homogéneos (diferencias no significativas), infiriéndose su pertenencia a una misma población (superposición de los intervalos de confianza).

Al concluir el ensayo, lactantes y destetados –además de aumentar sus pesos– incrementaron sus tasas de neutrófilos y eosinófilos, disminuyendo sus concentra-

Tabla 1. Sinopsis de los resultados obtenidos en terneros lactantes (L) y destetados (D).

parámetro	valores iniciales (día 0)		valores finales (día 120)	
	L (n = 60)	D (n = 60)	L (n = 60)	D (n = 60)
leucocitos tot. (G/l)	14,31 ± 1,69 a	14,19 ± 1,59 a	9,76 ± 0,90 a	12,08 ± 1,08 b
neutrófilos (G/l)	3,58 ± 0,57 a	3,67 ± 0,62 a	3,78 ± 0,59 a	4,12 ± 0,59 b
linfocitos (G/l)	10,22 ± 1,45 a	10,01 ± 1,31 a	5,39 ± 0,76 a	7,26 ± 0,95 b
monocitos (G/l)	0,44 ± 0,08 a	0,43 ± 0,07 a	0,31 ± 0,09 a	0,36 ± 0,09 a
eosinófilos (G/l)	0,07 ± 0,05 a	0,08 ± 0,06 a	0,36 ± 0,19 a	0,33 ± 0,15 a
peso (kg)	78,9 ± 6,9 a	77,8 ± 7,0 a	158,7 ± 11,7 a	139,4 ± 11,6 b

Valores en media aritmética ± desvío estándar. G/l: giga/litro. En cada fila, letras distintas indican diferencias significativas entre pares de medias ($p < 0,05$)

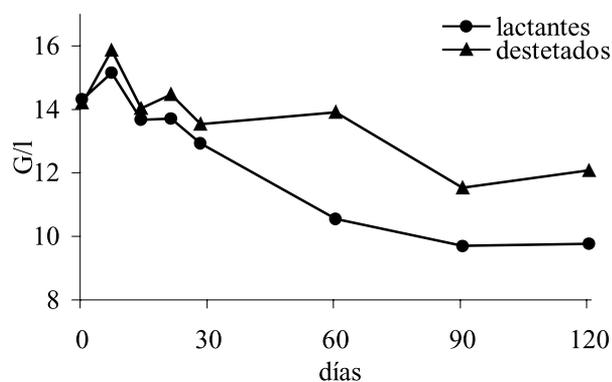


Figura 1. Evolución de los leucocitos totales.

ciones de leucocitos totales, linfocitos (marcadamente) y monocitos (levemente). Comparando los valores finales de ambos lotes, surge que los animales que habían sido precozmente destetados registraron menores tasas de eosinófilos (diferencia no significativa) y mayores proporciones de leucocitos totales, neutrófilos y linfocitos (significativas), así como de monocitos (no significativas).

El Anova de medidas repetidas reveló que las diferencias entre lotes (*efecto tratamiento*) fueron estadísticamente significativas para leucocitos totales (Figura 1), neutrófilos (Figura 2) y linfocitos (mayores en destetados que en lactantes), así como para los pesos (menores en experimentales que en controles). Las diferencias entre monocitos y eosinófilos no fueron significativas.

El *efecto tiempo* fue significativo para todos los parámetros estudiados, indicando que a lo largo de los 4 meses de ensayos, los terneros de ambos lotes tendieron a incrementar sus pesos y concentraciones de neutrófilos y eosinófilos (Figura 3), así como a disminuir sus tasas de monocitos, linfocitos y leucocitos totales.

Las comparaciones de medias (Tukey), revelaron que las diferencias entre terneros lactantes y destetados comenzaron a ser significativas ($p < 0,05$) para leucocitos totales, neutrófilos y peso a partir del día 7 y para linfocitos a partir del día 28. El momento de diferenciación entre ambos lotes no pudo establecerse para monocitos ni eosinófilos debido a que la singularidad de sus

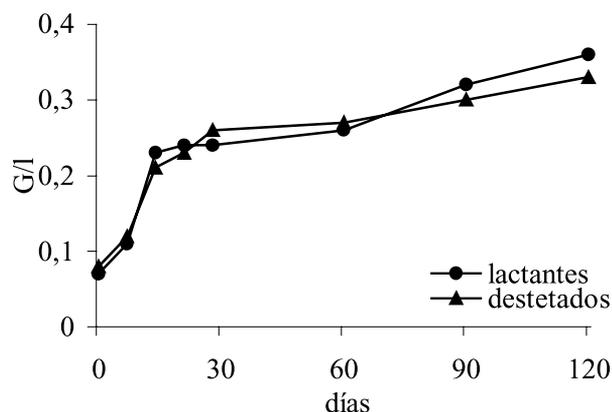


Figura 3. Evolución de los eosinófilos.

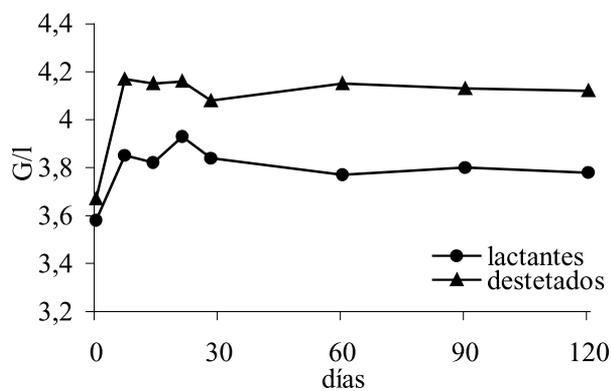


Figura 2. Evolución de los neutrófilos.

matrices de datos impidió que pudieran invertirse para efectuar los cálculos post-Anova.

Considerando exclusivamente al lote destetado, el test de Pearson reveló que, con excepción de los monocitos, las restantes variables dependientes estudiadas exhibieron entre sí alto grado de asociación lineal. En tal sentido, la declinación de leucocitos totales correlacionó significativamente con los descensos de linfocitos ($r = +0,99$; $p = 0,001$) y con los aumentos de neutrófilos ($r = -0,82$; $p = 0,05$), eosinófilos ($r = -0,76$; $p = 0,02$) y peso de los terneros ($r = -0,83$; $p = 0,01$).

DISCUSION

Los valores iniciales de los terneros de ambos lotes encuadraron en los respectivos intervalos de referencia regionales para su edad y raza ¹⁰.

Para una correcta interpretación de las modificaciones que el destete precoz introduce al leucograma del ternero, debería tenerse en cuenta que se trabajó con animales en pleno desarrollo, sobre los cuales la ontogenia imprimiría sus propios cambios. Por ello, tomando como *modelo* la evolución constatada en los controles (fluctuaciones fisiológicas comunes a ambos lotes), en los experimentales deberán *adosárseles* las variaciones provocadas por el destete precoz, a efectos de dilucidar si se trata de cambios atribuibles al crecimiento o al estrés.

1. Leucocitos totales

Declinación ontogénica: las referencias bibliográficas confirman que durante el crecimiento del bovino decrecería la concentración de glóbulos blancos, rumbo a los niveles normales de la adultez, desde 12,0 hasta 9,1 G/l ⁴, desde 10,7 hasta 8,0 G/l ¹⁹ o desde 8,0 hasta 7,0 G/l ¹³. Los leucocitos totales serían escasamente influenciados por el sexo pero mucho por la edad; los terneros registrarían mayores concentraciones que los adultos, con importantes cambios en el recuento diferencial. Durante el tercer mes de vida, el ternero poseería concentraciones de leucocitos entre 10 y 11 G/l. En la raza Jersey se habrían constatado valores máximos de glóbulos blancos de 9 G/l entre los 3 y 19 meses de edad,

que disminuirían hasta mínimos de 6 G/l en animales de 6 a 14 años¹⁹.

Incremento por alarma simpática y estrés: en bovinos existiría una *leucocitosis fisiológica* (pasajera) con elevaciones de hasta 15–27 G/l (con neutrofilia) y una *leucocitosis del estrés* (duradera), con elevaciones de 8 a 18 G/l acompañadas de neutrofilia, linfopenia, eosinopenia y –a veces– monocitopenia^{12, 34}. Experimentalmente, el exceso de glucocorticoides (prednisona) produjo en vacas elevaciones de leucocitos totales que variaron según la dosis: 50 mg produjeron ascensos que desde el valor basal (6,2 G/l) treparon a 11,8 G/l a las 12 horas; con 100 mg se incrementaron desde 14,2 hasta 22,8 G/l a las 12 horas, leucocitosis que a las 18 horas aún persistía en niveles de 19,9 G/l¹⁹.

La evolución de leucocitos totales en los terneros bajo ensayo debería interpretarse muy cuidadosamente debido a que los cambios registrados se deberían a la interacción de dos factores principales: por un lado habría actuado la ontogenia, cuya influencia declinante podría haber provocado el descenso paulatino en función del aumento de la edad (*efecto tiempo altamente significativo*), registrado en ambos lotes. Por el otro, el hecho que las concentraciones leucocitarias iniciales se hayan situado en “valores normales altos”, elevándose más aún en la primer semana (en ambos lotes), sugeriría una presunta acción atribuible a estrés o alarma simpática, máxime teniendo en cuenta que –a partir de los 7 días postdestete– los terneros experimentales registraron niveles más altos que los controles (*efecto tratamiento altamente significativo*). La cabal interpretación de estos cambios requiere que indispensablemente sean examinados teniendo en cuenta las modificaciones del recuento diferencial de glóbulos blancos: si bien en nuestros terneros aumentaron los neutrófilos (más en destetados que en controles, *argumento a favor del estrés*), los descensos de linfocitos fueron más pronunciados en los controles y no hubo eosinopenia, por el contrario, se registró aumento de eosinófilos en correlación significativa con el descenso de glóbulos blancos (*argumento a favor de la alarma simpática*). Si tales argumentaciones se confrontan con el comportamiento registrado por el conjunto de los indicadores de estrés (inalterabilidad de cortisol, aldosterona, glucosa, electrolitos y enzimas, objeto de otras comunicaciones), las deducciones nos alejan de tal síndrome y sugieren que en ambos lotes habrían ocurrido alarmas simpáticas (“valores normales altos”, incrementos durante la primer semana) atribuibles a descargas de adrenalina por excitación (contención, extracción sangre, manipulación para pesaje). Como ya se apuntara, estos aumentos ocurrirían de inmediato y tendrían una perdurabilidad de 30 a 60 minutos, por lo que no podrían haber escapado del control sanguíneo efectuado. A las citadas razones de alarma, en el lote experimental deberían sumárseles otras adicionales (alejamiento de la madre, brusco cambio de alimentación), lo que podría haber provocado que sus concentraciones leucocitarias fueran más elevadas que las de los controles.

2. Neutrófilos

Variaciones ontogénicas: durante la primer semana de vida los neutrófilos serían los leucocitos más abundantes en la sangre de los terneros, predominando sobre los linfocitos²³. Hasta el primer año de vida, registrarían declinaciones hacia el valor normal de adulto; la fórmula leucocitaria del bovino variaría escasamente entre sexos pero considerablemente por la edad. Al nacimiento, la concentración de neutrófilos sería de 4,8 G/l (47%); a los tres meses disminuiría a 2,8 G/l (26%); en adultos oscilaría entre 0,6 y 4,0 ($x = 2$ G/l), lo que representa valores relativos medios de 45%. La evolución de los neutrófilos en terneros Jersey arrojó para cada edad los siguientes datos: 3–4 meses = 1,96 G/l (28%), 7–9 meses = 0,72 G/l (9%), 11–12 meses = 1,04 G/l (13%), 15–19 meses = 2,34 G/l (26%) y adultos de 6–14 años = 1,36 G/l (21%)¹⁹. Los terneros bajo ensayo iniciaron la experiencia con niveles acordes a su edad y raza (3,62 G/l = 25%) pero luego –especialmente en las primeras semanas– elevaron sus tasas de neutrófilos, en contraposición a lo esperado por efecto de la ontogenia. Este fenómeno intentará explicarse en el punto siguiente.

Aumentos por alarma simpática y estrés: estos polimorfonucleares aumentarían tanto por la alarma simpática pasajera (excitación, miedo, ejercicio), sin desviación a la izquierda^{8, 17}, como por el estrés^{3, 5, 16, 33, 36}. Los incrementos de neutrófilos habrían sido reiteradamente constatados en bovinos con estrés^{21, 22, 32}, a veces cuadruplicando su tasa hemática¹⁶. Acorde a la línea de pensamiento hasta aquí sostenida, coincidimos en que el estrés (acción cortisólica) elevaría a los neutrófilos, monocitos y leucocitos totales, pero disminuiría a los linfocitos y eosinófilos, en tanto que las alarmas simpáticas o leucocitosis fisiológicas (acción adrenalínica) aumentaría todos los tipos de glóbulos blancos³⁴. El efecto de los glucocorticoides (estrés) se traduciría entonces en neutrofilia y leucocitosis, con linfopenia y eosinopenia, en tanto que la respuesta adrenalínica provocaría el aumento de todos los leucocitos, incluyendo –a veces– eosinofilia y monocitosis¹². Experimentalmente, la inyección de un sucedáneo del cortisol habría provocado en vacas efectos leucocitarios que variaron según la dosis: 50 mg habrían inducido que los niveles basales de neutrófilos (3,1 G/l) se elevaran a 8,8 G/l a las 12 horas; 100 mg habrían subido el valor inicial (4,1 G/l) a 12,1 G/l a las 12 horas y 12,2 G/l a las 18 horas; 500 mg habrían sido capaces de incrementar la tasa original (2,6 G/l) a 7,3 G/l a las 72 horas¹⁹.

En función de lo antedicho, conjeturamos que las fluctuaciones en la declinación ontogénica de neutrófilos en ambos lotes se habría debido a además neutrofilicos provocados por alarma simpática (sujeción, manipulación, extracción de sangre, arreos, pesajes). Nótese (Figura 2) que luego de los abruptos incrementos iniciales, parecería sobrevenir un “acostumbramiento” con estabilización de estos polimorfonucleares. La significación estadística del *efecto tratamiento* (mayores tasas en destetados que en controles) debería ser quizás interpretada en función a la magnitud de la alarma, ya que en

el lote experimental debería tenerse en cuenta la interacción del destete (ausencia materna, brusco cambio dietario). Otros argumentos en contra de la hipótesis del estrés hipercortisolémico han sido vertidos en ocasión de discutir la evolución de los leucocitos totales, a los que podría sumárseles la ausencia de correlaciones significativas entre neutrófilos y otros analitos indicadores de estrés, así como su asociación lineal con el aumento de los eosinófilos.

3. Linfocitos

Variaciones ontogénicas: los linfocitos serían escasos en sangre de terneros recién nacidos, situación que perduraría hasta los 7 días de vida²³. El predominio de los neutrófilos se revertiría luego de la primer semana debido al ascenso de los linfocitos, que serían los glóbulos blancos más abundantes durante el resto de la vida del bovino, sin muchas diferencias atribuibles al sexo. Al nacimiento el ternero poseería 3,9 G/l (44%), tasa que a los 3 meses aumentaría a 6,8 G/l (64%)¹⁹. Los terneros aquí empleados habrían mostrado un comportamiento opuesto a la afirmación que relata *un constante aumento de linfocitos durante el primer año de vida*¹⁹. Esta aseveración se contradice con datos adicionales utilizados más adelante por el investigador citado para ejemplificar los cambios. En efecto, si en terneros existirían 6,8 G/l (64%) y en bovinos adultos 4,5 G/l (58%), *la tendencia sería declinante en lugar de incrementativa*. En otro ejemplo, refiere que en la raza Jersey los linfocitos registrarían tasas de 4,41 G/l (63%) a los 3–4 meses de vida, para estabilizarse en 4,22 G/l (65%) a los 6–14 años de edad¹⁹; mal podría utilizarse una diferencia de 0,19 G/l (2%) a lo largo de 14 años para afirmar “aumento constante” de un elemento figurado que en sangre de terneros podría variar entre 39 y 77% y en adultos entre 45 y 75% según otros autores^{4, 8, 13, 23, 31}. En otros trabajos no se hallaron tales *aumentos constantes hasta el primer año de vida*^{13, 31}. Por el contrario, en experiencias anteriores propias, sobre terneros cruza cebú se habrían detectado declinaciones de linfocitos entre los 3 meses de edad = 71%¹⁰ y los 8 meses de vida = 46%⁹, situación muy semejante a la observada en el presente ensayo, donde las tasas medias iniciales (2–3 meses de edad) fueron del 70% y las finales (6–7 meses de edad) se situaron en el 58%. Para esta raza y clima, durante el período en discusión, el efecto ontogénico induciría a la declinación de los linfocitos.

Modificaciones por alarma simpática y estrés: persistiendo en la necesidad de diferenciar las alarmas simpáticas pasajeras (adrenalina) del estrés (cortisol), cabría recordar que este último provocaría linfopenia, eosinopenia, neutrofilia y leucocitosis, en tanto que la primera situación se caracterizaría por linfocitosis, eosinofilia, neutrofilia y leucocitosis^{19, 34}. La linfopenia inducida por el estrés podría ser utilizada para discriminar entre neutrofilias atribuibles a alarmas simpáticas y neutrofilias atribuibles a estrés; aquéllas serían rápidamente reversibles pero las provocadas por cortisol (o sucedáneos exógenos) requerirían varios días para

remitir a valores basales¹². Es opinión unánime que los linfocitos descienden en el estrés^{3, 5, 16, 18, 20, 26, 33, 34, 36}. Muchos autores habrían constatado linfopenias relacionadas al estrés del bovino^{8, 12, 17, 21, 22, 32}. Así pudo comprobarse experimentalmente en vacas tratadas con prednisona, donde dosis de 50 mg habrían provocado que los valores basales de linfocitos (2,4 G/l) disminuyeran a 2,0 G/l a las 12 horas; dosis de 100 mg los habrían descendido desde 8,6 a 5,6 G/l a las 18 horas y dosis de 500 mg habrían generado efectos linfopénicos que llevaron las tasas iniciales (4,2 G/l) a niveles de 2,5 G/l a las 72 horas¹⁹.

Postulamos que el descenso de linfocitos en los terneros estudiados (irregular pues incluyó acmés incrementativos) se debería a fluctuaciones fisiológicas determinadas por razones ontogénicas. En efecto, se han citado antecedentes de declinación de linfocitos en terneros de la misma edad y raza, además de haberse registrado un *efecto tiempo* altamente significativo. En contra de la posibilidad que la declinación se hubiera debido al estrés del destete precoz, surge inconmovible el hecho que los decrementos ocurrieron tanto en animales destetados como en los amamantados al pie de madre. Más aún: los linfocitos resultaron más elevados en los terneros experimentales (donde presuntamente deberían haber ocurrido linfopenias si hubiera existido estrés) que en controles (*efecto tratamiento* altamente significativo). Además, los promedios nunca acusaron *linfopenias estrictas* (estrés), sino más bien fluctuaciones decrementativas (ontogenia) enmarcadas en el intervalo de referencia de este leucocito. Las correlaciones establecidas por los linfocitos ocurrieron con parámetros que también variaron por efectos de la ontogenia, antes que por estrés. En esta teorización no debería perderse de vista el comportamiento del resto de los indicadores de estrés, ya discutidos en el caso de leucocitos totales. Sin embargo, en coherencia con la postulación de alarmas simpáticas para explicitar los acmés leucocitarios y neutrofilicos, cabría autocuestionarse sobre la no elevación registrada por los linfocitos en respuesta a las descargas de adrenalina, tal como algunos describen. En realidad, ocurrieron incrementos (con antibajos) durante las primeras semanas y en los últimos 30 días. Probablemente el *acostumbramiento* de los terneros a las manipulaciones excitatorias haya minimizado la respuesta linfocitaria (tal como habría ocurrido con los neutrófilos y la glucemia), prevaleciendo entonces el efecto de la ontogenia. Además, la cuantía de la elevación de linfocitos en una alarma simpática siempre es sensiblemente menor a la magnitud de la elevación de los neutrófilos. Las leucocitosis por descarga de adrenalina (miedo, excitación, ejercicio físico) ocurren preponderantemente a expensas del incremento de neutrófilos antes que de linfocitos^{3, 8, 23}. Quienes desarrollen habitualmente tareas en el laboratorio veterinario, coincidirán que en animales sometidos a sujeción y extracción de sangre es muy frecuente la presentación de leucocitosis neutrofilica (sin linfocitosis). Los linfocitos revelaron más alto grado de asociación lineal con

elementos figurados que aumentan por ontogenia, como los eosinófilos ($r = -0,89$, $p = 0,01$) que con los relacionados a la alarma simpática, como los neutrófilos ($r = -0,79$, $p = 0,04$). Concluyendo este ítem, se propone que para fundamentar las declinaciones de linfocitos, por las razones apuntadas *ut-supra*, sean priorizadas como causales los efectos de la evolución etárea (ontogenia), antes que la instalación de un cuadro de estrés.

4. Monocitos

Descenso ontogénico: varios de los autores consultados coinciden en que los terneros tendrían valores ligeramente más altos que los adultos, por lo que durante el crecimiento la tendencia sería declinante, como la registrada en el presente ensayo^{9, 10, 13, 31}. Sin embargo, habría un período en que los monocitos aumentarían en el ternero; ello se desprende de que al nacimiento registrarían 0,4 G/l (5%) y a los 3 meses se incrementarían a 0,7 G/l (8%). Desde allí en adelante (período que comprenderá la edad de los animales aquí empleados), descenderían hacia valores de adulto, establecidos en 0,4 G/l (0,02 a 0,80 G/l), que en términos relativos significan 4% (2 a 7%), sin grandes diferencias entre sexos¹⁹.

Incremento por estrés y alarmas simpáticas: en ambos casos los monocitos podrían aumentar (inconstante y escasamente); en el primero con elevación del resto de los leucocitos y en el segundo con ascenso de neutrófilos y glóbulos blancos totales, disminuyendo linfocitos y eosinófilos^{21, 34}. La administración de glucocorticoides a bovinos adultos habría producido elevación de los niveles basales de monocitos (0,3–0,5 G/l), directamente proporcionales a las dosis empleadas: 50 mg los elevaron a 0,8 G/l a las 12 horas, 100 mg los incrementaron a 1,6 G/l a las 18 horas y 500 mg los ascendieron a 1,1 G/l a las 72 horas¹⁹.

En caso de que el estrés (exceso de corticosteroides) fuera capaz de elevar la tasa de monocitos del bovino, nuestros terneros experimentales no habrían padecido el síndrome pues sus valores no se modificaron por el *efecto tratamiento* (destete precoz). Por el contrario, en ambos lotes hubo declinaciones (leves pero significativas) atribuibles a razones ontogénicas.

5. Eosinófilos

Ascenso ontogénico: al comparar los niveles reportados para terneros y animales adultos surge que estos granulocitos serían más bajos en la joven edad^{9, 10, 31}. En efecto, si bien estarían exentos de diferencias intersexuales, los eosinófilos variarían con el crecimiento, registrándose su constante aumento durante el primer año de vida. Hasta los 6 meses de edad su tasa no superaría el 1,5% pero en adultos podría llegar al 10%¹⁹. En términos absolutos, terneros de 3 meses tendrían niveles de $0,1 \pm 0,3$ G/l (0,7%) y las vacas adultas poseerían eosinófilos en tasas de 0,7 G/l (9%). En la raza Jersey se habrían registrado secuencialmente valores que avalan el incremento etéreo de estos polimorfonucleares, resultando a los 3–4 meses de 0,06 G/l (0,8%), 7–9 meses:

0,08 G/l (1%), 11–12 meses: 0,12 G/l (1,5%), 15–19 meses: 0,54 G/l (6%) y adultos de 6–14 años habrían obtenido concentraciones de 0,65 G/l (10%)¹⁹. En la presente investigación los terneros de 2–3 meses registraron 0,07 G/l (0,5%) y 0,08 G/l (0,6%) en los grupos control y experimental respectivamente, para concluir (edades de 6–7 meses) con concentraciones de 0,36 G/l (2,9%) y 0,33 G/l (2,8%) respectivamente.

Variaciones por estrés y alarma simpática: los eosinófilos disminuirían su tasa sanguínea en casos de estrés^{3, 5, 16, 17, 20, 33, 36}. Salvo algunas excepciones⁸, la eosinopenia sería constante en el estrés del bovino^{12, 21, 32}. La eosinopenia comenzaría a las 2–3 horas de la injuria estresante y persistiría durante varios días¹². En las alarmas simpáticas (adrenalina), por el contrario, estos granulocitos se elevarían conjuntamente con el resto de los glóbulos blancos; ello posibilitaría diferenciar este cuadro del provocado por estrés (cortisol), donde disminuirían eosinófilos y linfocitos^{19, 34}. Experimentalmente, los glucocorticoides administrados a bovinos adultos habrían provocado intensas eosinopenias en directa relación a la dosis, pues 50 mg habrían deprimido los niveles basales (0,3 G/l) a 0 G/l a las 12 horas, 100 mg habrían generado que la tasa inicial (0,9 G/l) descendiera a 0,2 G/l a las 18 horas y dosis de 500 mg habrían inducido que el valor normal (0,8 G/l) disminuyera a 0 G/l a las 72 horas¹⁹.

La instalación de un síndrome de estrés en los terneros destetados debería haberles provocado eosinopenia, lo cual no se constató. Por el contrario, los eosinófilos aumentaron en ambos lotes de manera similar (*efecto tratamiento* no significativo). Se ha establecido que estos leucocitos se elevan en las alarmas simpáticas (descargas adrenalinicas por arreos, pesajes, sujeción, extracción de sangre). En un principio nos sedujo la idea de atribuir las elevaciones de nuestros terneros a tal causa, especialmente por el abrupto acmé inicial (supuestas “alarmas”) seguido por incrementos más suaves (“acostumbramiento”) y por haber ocurrido en ambos lotes (en ambos habría habido miedo y excitación). Sin descartar totalmente esta posibilidad, dado que hubo correlación estadística entre los eosinófilos y el resto de los leucocitos (cuyos cambios principales se atribuyen a reacciones de alarma), la hipótesis de mayor peso es que los aumentos hayan ocurrido como producto de la evolución etárea, pues el *efecto tiempo* fue altamente significativo y hubo numerosas correlaciones con análisis que también variaron por razones ontogénicas. Además, la magnitud de los aumentos registrados fue escasa, no habiéndose constatado verdaderas *eosinofili* ni siquiera entre los rangos individuales máximos; el más alto fue de 0,75 G/l (5,2%), cuando en la rutina diaria del laboratorio las eosinofili pueden superar tasas del 30%. El comportamiento de los eosinófilos, atribuible a causas ontogénicas (sin desechar algún efecto aditivo por alarma simpática), nos aparta aún más de la probabilidad que los terneros sometidos a destete precoz hayan padecido estrés.

6. Otros parámetros de laboratorio

Confirman la ausencia de estrés datos que –por su extensión– serán objeto de ulteriores comunicaciones, como la invariabilidad de cortisol, aldosterona, fructosamina, Na, K y enzimas. Aludiendo a estados de hiponutrición, en el lote experimental se verificaron disminuciones de proteínas totales, albúminas, urea, lípidos, P, Mg, Cu, Fe y analitos del eritrograma.

7. Peso

Peso y ontogenia: nuestras ganancias de 513 g/animal/día en terneros destetados no se alejan significativamente de las obtenidas en el nordeste argentino por otros investigadores, de 576 g²⁵, 650 g⁶ y 731 g³⁷. Si bien los machos (castrados) registraron pesos ligeramente superiores a los de las hembras, las diferencias no fueron significativas. Los resultados casi unánimes de las experiencias de destete precoz sobre pastura natural más suplemento balanceado indican que los terneros, al momento del destete convencional, han ganado menos peso que los amamantados al pie de madre^{2, 27, 30}.

Peso y estrés: mal podrían atribuirse las menores ganancias de peso de los terneros destetados como provocadas (por lo menos en forma exclusiva) por el estrés, especialmente a tenor de las variaciones leucocitarias. Si bien algunos agentes estresantes como el *excesivo movimiento* (no relacionado en nuestro caso) serían capaces de provocar pérdida de apetito y reducción de la ingesta de alimentos²⁴, otros como el *aislamiento* (más relacionado en nuestro caso pues los terneros fueron *aislados* de sus madres), generarían aumentos de peso por hiperfagia¹⁴.

La menor ganancia de peso en terneros precozmente destetados, antes que al estrés, se atribuye al desbalance nutricional provocado por el abrupto cambio de dieta. Se advierte que en los últimos años los reportes sobre destete precoz soslayan referirse al estrés como causante del deterioro del ternero y enfocan la atención hacia la estrategia alimentaria^{2, 27, 37}, circunstancia que avala nuestras conclusiones. La evolución de la tasa proteica de los balanceados comerciales para destete precoz ratificaría esta hipótesis, pues en sus comienzos poseían 16 a 18%¹⁰, luego se recomendó un 20%²⁷ y actualmente hay fábricas que lo elaboran con un 21% de proteínas. Quizás aún no se habría hallado el suplemento *ideal*, que combine buenos aportes nutricios con costos rentables.

En conclusión, las modificaciones del leucograma en terneros cruce cebú sometidos a destete precoz compatibilizan con cambios fisiológicos atribuibles al crecimiento y a las alarmas simpáticas provocadas por la excitación del arreo, sujeción y extracción de sangre, pero no con estrés.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la UNNE, por apoyar económicamente

la investigación. A las empresas Wiener y Biopur por suministrar los reactivos utilizados en el estudio.

Abstract

Coppo, J.A.; Coppo, N.B.; Revidatti, M.A.; Capelari, A.: *Leukogram modifications in early weaned cross-bred zebu calves.* The purpose of this study was to determine whether if leukogram changes in early weaned calves were caused by stress, sympathetic alarms and/or ontogenic reasons. In 4 successive years, 4-month assays were carried out, involving 120 animals. Sixty of them were separated from their mothers 60–75 days post-partum, supplemented with a balanced diet. The rest of the animals was considered as lactation controls, fed on natural pasture. A repeated measure design was used. Body weight and blood sample parameters were obtained from both lots at 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 and 120 days. Weaned calves showed ($p < 0.05$) smaller final weight than controls (139.4 ± 11.6 versus 158.7 ± 11.7 kg) and bigger rates of total leukocytes (12.08 ± 1.08 versus 9.76 ± 0.90 G/l), neutrophils (4.12 ± 0.59 versus 3.78 ± 0.59 G/l) and lymphocytes (7.26 ± 0.95 versus 5.39 ± 0.76 G/l). All the studied parameters varied in function of growth, with an increment of neutrophils and eosinophils, and a decrease of total leukocytes, lymphocytes and monocytes. These changes were significantly correlated to weight. Modifications are attributed to ontogenesis and sympathetic alarms, but not to stress.

Key words: calves, early weaning, leukocytes, sympathetic alarm, stress

REFERENCIAS

1. **Acosta GB, Otero-Losada ME, Rubio MC.** 1990. Chronic chemical stress. *Acta Physiol. Pharm.* 40: 267–268.
2. **Arias AA.** 1996. El destete precoz y los sistemas de producción. *Anales Jornada Técnica sobre Destete Precoz*, INTA EEA Corrientes, p. 43–58.
3. **Balcells A.** 1978. *La Clínica y el Laboratorio*, Ed. Marín, Barcelona, p. 606.
4. **Benjamin MM.** 1967. *Patología Clínica Veterinaria*, 2° ed., CECSA, México, p. 354.
5. **Best CH, Taylor NB.** 1986. *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*, 11° ed., Panamericana, Buenos Aires, p. 1572.
6. **Casanova D, Lotti A.** 1992. Destete precoz. *Anales Iras. Jornadas Técnicas sobre Destete Precoz*, Virasoro, Corrientes, p. 5–8.
7. **Chenoweth PJ.** 1987. Programas veterinarios para la explotación ganadera extensiva. *Therios*, Supl. Esp. N° 1, 87–96.
8. **Coles EH.** 1986. *Veterinary Clinical Pathology*, 4th ed., Saunders, Philadelphia, p. 486.
9. **Coppo JA, Scorza SH, Coppo NB.** 1994. Biochemical profiles of argentine cattle supplemented with cottonseed. *RIA* 25: 91–102.

10. **Coppo JA, Coppo NB, Slanac AL.** 1996. Ontogenia del medio interno en terneros lactantes cruza cebú. *Actas Ciencia & Técnica UNNE* 2: 99–101.
11. **Delpino C.** 1992. Destete precoz, la transformación de lactante a rumiante del ternero. *Anales Iras. Jorn. Técn. sobre Destete Precoz*, Virasoro, Corrientes, p. 12.
12. **Duncan JR, Prasse KW.** 1986. *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology*, 2nd ed., Iowa Univ. Press, Ames, p. 243.
13. **Durr UM, Kraft W.** 1980. *Laboratory Testing in Veterinary Medicine*, Public. Boehringer Mannheim, Munich, p. 130.
14. **Fiala B, Snow FM, Greenough WT.** 1977. Impoverished rats weigh more than enriched rats because they eat more. *Dev. Psychobiol.* 10: 533–541.
15. **Galli IO, Monje AR, Hofer CC.** 1995. Destete precoz: clave para nuevos sistemas de producción de carne vacuna en la Provincia de Corrientes. *VIII Jorn. Vet. Ctes.* (Premio Fundación Schiffó), Corrientes. Public. INTA Concep. del Uruguay, p. 33.
16. **García Sacristán A.** 1995. *Fisiología Veterinaria*, Interamericana, Madrid, p. 1074.
17. **Gómez Piquer J.** 1992. *Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria*, Mira, Zaragoza, p. 445.
18. **Ióvine E, Selva AA.** 1981. *El Laboratorio en la Clínica*, 2^o ed., Panamericana, Buenos Aires, p. 1078.
19. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, p. 417.
20. **Kalinov A.** 1984. *El Laboratorio y su Interpretación Seriológica*, 2^o ed., López Libreros, Buenos Aires, p. 1209.
21. **Kaneko JJ.** 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th ed., Academic Press, San Diego, p. 832.
22. **Kent JE, Ewbank R.** 1986. The effect of road transportation on the blood constituents and behaviour of calves. *Brit. Vet. J.* 142: 131–140.
23. **Medway W, Prier JE, Wilkinson JS.** 1980. *Patología Clínica Veterinaria*, Uteha, México, p. 532.
24. **Mitchell D, Laycoch BS, Stephens F.** 1977. Induced pica in the rats. *Am. J. Clin. Nutr.* 30: 147–150.
25. **Monje AR, Hofer CC, Galli IO.** 1993. Destete precoz. *Anales Jorn. Dif. Técn.* INTA Concepción del Uruguay, p. 5–59.
26. **Nockels CF.** 1992. Alteraciones minerales asociadas con el estrés, traumas e infección y su efecto sobre la inmunidad. *Therios* 19: 344–353.
27. **Peruchena CO.** 1996. Destete precoz, manejo y nutrición de los terneros. *Anales Jornada Técnica sobre Destete Precoz*, INTA EEA Corrientes, p. 1–18.
28. **Pordomingo AJ, Juan N, Jouli R.** 1996. Efecto de la fuente de fibra, la duración de la suplementación concentrada y el peso al destete sobre el crecimiento del ternero de destete precoz. *Anales XX Congr. Arg. Prod. Anim.*, Río Hondo, Argentina, p. 25.
29. **Renner JE.** 1991. *Los Terneros*, Hemisferio Sur, Buenos Aires, p. 66.
30. **Sampedro DH, Vogel O, Celser R.** 1994. Manejo reproductivo de un rodeo de cría. *Boletín Inform. INTA Mercedes*, Nro. 294.
31. **Schalm OW.** 1981. *Veterinary Haematology*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, p. 664.
32. **Schillinger D, Bucher W.** 1981. Investigaciones sobre la influencia de los glucocorticoides y del ACTH sobre el cuadro sanguíneo del bovino. *Gaceta Vet.* 43: 492.
33. **Smith LH, Thier SO.** 1983. *Pathophysiology. The Biological Principles of Disease*, Saunders, Philadelphia, p. 1508.
34. **Sodikoff C.** 1988. *Perfiles de Laboratorio en las Enfermedades de los Pequeños Animales*, Inter-Vet, Buenos Aires, p. 217.
35. **Swenson MJ, Reece WO.** 1999. *Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes*, 2^o ed., Uteha, México, p. 925.
36. **Von Faber H, Haid H.** 1979. *Endocrinología. Bioquímica y Fisiología de las Hormonas*, Hemisferio Sur, Buenos Aires, p. 166.
37. **Zeni C, Zeni M, Prieto E, Gerde H, Witt AC.** 1994. Resultados de la implementación del destete precoz en la Provincia de Corrientes. Manejo y nutrición del ternero. *Anales VII Congr. Arg. Cs. Vet.*, Buenos Aires, p. 78.