

## Efecto del levamisol en la respuesta del sistema inmune en equinos seropositivos a anemia

N. Zaldívar, H. Barrera, H. Chacón, Lidia Ortiz Ruíz, H. Puebla y R. Romero

Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Granma, Cuba

### RESUMEN

Se estudió el efecto del levamisol en la respuesta del sistema inmune en equinos seropositivos a anemia. Se seleccionaron 48 animales de ambos sexos, de la raza mestiza Quarter Horse, en condiciones de producción y sometidos a las mismas condiciones de manejo y explotación. Estos fueron separados por grupos de edades: de 3 a 6 años y más de 6 años, divididos en dos subgrupos: portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina. Se dejó al 50 % de estos subgrupos como control y el resto como grupo experimental; a estos últimos se les aplicó levamisol en dosis inmunoestimulantes de 2 mg/kg de peso vivo a los 0 y 7 días experimentales. Todo los grupos fueron evaluados hematológica y serológicamente a los 0 y 14 días. Los resultados fueron negativos a la leptospirosis, la brucelosis y la hemoparasitosis. Todos los animales portadores virémicos de anemia infecciosa equina presentaron anemia. Los grupos estimulados manifestaron diferencia significativa con respecto al control en el por ciento de linfocitos inmunológicamente activos con respuesta de inmunidad celular (linfocitos T). Se manifestó una reacción más intensa en los animales portadores virémicos de 3 a 6 años de edad.

### ABSTRACT

The effect of Levamisole upon the immune system response of equines seropositive to anemia was discussed. Forty-eight productive creole Quarter Horses from both sexes under the same handling and management conditions were sampled. They were distributed into age groups –from 3 to 6 years old and over 6 years old–, and in turn. These groups were divided into two subgroups: carriers and non-carriers of equine infections anemia. Half the animals from both subgroups were taken as a control group, and the other half an experimental group. The last one was administered a 2 mg/kg Levamisole immuno-stimulant dose at 0 and 7 days during the experimental stage. Results proved negative to leptospirosis, brucellosis, and hemoparasitosis. All virus carriers were positive to anemia. Animals under Levamisole treatment showed a significant difference regarding the control of the percent of immunologically active lymphocytes with a cell immune response (T. lymphocytes). A much more intense response was registered for virus carriers from 3 to 6 years old.

**PALABRAS CLAVE:** anemia infecciosa equina, inmunidad, efecto del levamisol

### INTRODUCCIÓN

La anemia infecciosa equina (A.I.E.) es una enfermedad viral caracterizada por persistencia vírica y anemia, debido a los procesos inmunológicos involucrados en la génesis de las lesiones (Biasatti, Elena 1984).

El virus de la anemia infecciosa equina se ha convertido en un modelo biológico para los estudios de persistencia vírica y las futuras investigaciones de la correlación AIE-SIDA (Villa Aleida *et al.*, 1990.)

No existe un tratamiento específico para esta enfermedad, depresora del sistema inmune. Muchos autores plantean que en el futuro la terapia de este tipo de enfermedad radica en las investigaciones sobre la inmunomodulación de las reacciones inmunomorfológicas del organismo.

Dentro de las sustancias conocidas como inmunoestimulantes o inmunopotenciadoras se destaca el levamisol, compuesto químico con gran capacidad para incrementar la inmunidad mediada por células, fundamentalmente mediante el restablecimiento de las funciones efectoras de los linfocitos T y los macrófagos (Bruner y Muscoplat, 1980; Babiuk y Mirsa, 1981). Funciona de forma similar a la hormona tímica (timopoyetina). Produce sus mayores efectos en animales con función de las células T deprimidas (Rahway, 1993).

Teniendo en cuenta lo anterior, se evaluó el efecto del levamisol sobre la respuesta del sistema inmune de equinos seropositivos a la anemia Infecciosa.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se desarrollaron en equinos de ambos sexos, de la raza mestiza Quarter Horse, sometido a las mismas condiciones de manejo y alimentación y separados por grupos de edades: de 3 a 6 y más de 6 años, los que se dividieron a su vez en dos subgrupos: portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina. Se dejó el 50 % de cada subgrupo como control y el resto como grupo experimental; a estos últimos se les aplicó levamisol intramuscular como inmunoestimulante en dosis de 2 mg/kg PV a los 0 y 7 días experimentales. Todos los grupos fueron evaluados hematológica y serológicamente a los 0 y 14 días.

La sangre se extrajo por punción de la vena yugular con agujas de California estériles e individuales para cada animal. Para hematología se utilizó EDTA como anticoagulante. La hemoglobina se determinó por el método de la cianometahemoglobina; el hematócrito según el método de wintrobe; el conteo total de leucocitos mediante la cámara de Neubauer; el diferencial y la presencia de hemoparásitos en frotis fijados con alcohol metílico y coloreado con Giensa. Serológicamente se evaluó la positividad a la anemia infecciosa

**Tabla 1. Comportamiento hematológico en los grupos de edades de los animales portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Grupos	Grupos de edades							
	3 a 6 años				Más de 6 años			
	Control		Experimental		Control		Experimental	
Días	0	14	0	14	0	14	0	14
Hto	31,12a	31,2a	31,16a	31,8	29a	28,7a	29,2a	30a
Hb	10,35a	10,32a	10,34a	10,8a	9,12a	9,15a	9,21a	9,95a
Leucocitos	8108b	8110b	8098b	9123a	8006b	8000b	8012b	8483b
Linfocitos	44c	42c	42,5c	59a	43,4c	41c	41,3c	51b

En las filas, las medias con letras diferentes presentan diferencia significativa ( $P<0,05$ ), según prueba de Newman-Keuls.

**Tabla 2. Comportamiento de los linfocitos en los grupos de edades en animales portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Edad (años)	Grupos	Días	Linfocitos estimulados	Linfocitos T	Linfocitos B
3 a 6	Control	0	36,5c	71c	29a
		14	37c	70,3c	29,7a
	Experimental	0	36c	73c	27b
		14	71 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	13c
Más de 6	Control	0	33,7c	74c	26b
		14	31c	73c	27a
	Experimental	0	33,66c	73,5c	27,5a
		14	47b	79.5b	20,5b

En las columnas, las medias con letras diferentes presentan diferencia significativa ( $P<0,05$ ), según prueba de Newman-Keuls.

equina mediante la prueba de AGID; la brucelosis por Rosa de Bengala y la leptospirosis por microaglutinación.

Para evaluar cualitativamente la síntesis de los ácidos nucleicos, y determinar la presencia de linfocitos T y B estimulados, según lo descrito por la Norma 870-86 (Minagri 1986) se utilizó la tinción especial de verde metil pironina sobre frotis fijados con acetona al 60 %.

Los datos se analizaron y procesaron mediante la prueba Newman-Keuls del paquete estadística de Windows 98.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se observa el comportamiento de los resultados hematológicos por grupos de edades en los animales portadores del virus de la anemia infecciosa equina. En todos los casos se aprecia una disminución del hematócrito por debajo de los parámetros normales, reflejando la anemia característica de esta enfermedad planteada por autores como Ensminger, 1990; Chamizo, 1995 y Bofill et al., 1996. La hemoglobina se encuentra dentro de los valores normales pero muy próxima a los límites inferiores; no aparece ningún efecto visible del levamisol sobre estos.

Existe diferencia significativa en ambos grupos experimentales con respecto al control en el por ciento de linfocitos; se refleja el efecto del levamisol sobre estas células, pues como ha sido planteado por Rahway (1993) los inmunoestimulantes se utilizan para inducir un realce no específico para un antígeno en el sistema inmune, siendo más útiles cuando se usan para tratar enfermedades crónicas con evidencias de inmunodepresión. Además, en el por ciento de linfocitos después de la estimulación, hay una diferencia significativa a favor de los animales jóvenes, cuyo sistema inmune presenta mayor capacidad reaccional; en contraste con el agotamiento de los sistemas orgánicos de los animales adultos. Se encontró diferencia en el total de leucocitos entre el grupo control y el experimental de los animales de tres a seis años; pero no fue así en los de más de 6 años, lo que corrobora lo anteriormente planteado.

La tabla 2 revela el comportamiento de los linfocitos por grupos de edades en los animales portadores virémicos de la anemia infecciosa equina. Estos resultados reafirman la efectividad del levamisol como inmunoestimulante, al existir diferencia significativa en los lin-

**Tabla 3. Comportamiento hematológico en los grupos de edades de los animales no portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Grupos	Grupos de edades							
	3 a 6 años				Más de 6 años			
	Control		Experimental		Control		Experimental	
Días	0	14	0	14	0	14	0	14
Hto	33a	32,6a	32,8a	34,6a	32,1a	32,4a	32,2a	33a
Hb	11,22a	11,2a	11,06a	11,64a	11,2a	11,9a	11,1a	11,12a
Leucocitos	8777a	8803a	8716a	9061a	8887a	8716a	8857a	9033a
Linfocitos	44,2b	43,7b	42,6b	52,5a	43b	41b	44b	50,6a

En las filas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), según prueba de Newman-Keuls.

**Tabla 4. Comportamiento de los linfocitos en animales no portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Edad (años)	Grupos	Días	Linfocitos estimulados	Linfocitos T	Linfocitos B
3 a 6	Control	0	36,5b	74b	26b
		14	37b	70,3b	29,7a
	Experimental	0	36b	73b	27b
		14	50,6a	80 <sup>a</sup>	20b
6 a 9	Control	0	33,7b	74b	26b
		14	33b	73b	27b
	Experimental	0	32,4b	74,6b	25,4b
		14	49a	79,6 <sup>a</sup>	20,4b

En las columnas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), según prueba de Newman-Keul

focitos estimulados de ambos grupos experimentales con respecto al control, con igual comportamiento en el por ciento de linfocitos T, corroborando lo planteado por Villa Aleida *et al.*, (1989) de que el nivel de linfocitos T, una vez que se aplica el inmunoestimulante, pudiera estar relacionado con el hecho de que en la anemia infecciosa equina la inmunidad es sobre todo celular y que la linfoblastogénesis al antígeno viral es por linfocitos T y no B.

Vanselow (1987) refiere que los animales con función de células T deprimida son susceptibles a una fuerte respuesta una vez que les son suministrados estimulantes inmunológicos. Sin embargo, nuestros resultados

demuestran que los animales enfermos crónicos con edades avanzadas, aunque presenten más deprimidas las células T que animales jóvenes en las mismas fases de la enfermedad, manifiestan una reacción inferior al aplicarles el inmunoestimulante.

En la tabla 3 se muestran los resultados de la evaluación por grupos de edades en equinos no portadores del virus de la AIE. Los valores de hematocrito y hemoglobina se encuentran dentro de los parámetros fisiológicos, los leucocitos totales no manifiestan cambios. Ambos grupos de edades no manifiestan diferencias en el control en los días investigados. Los grupos experimentales difieren

significativamente con respecto a los controles en el por ciento de linfocitos y no así entre los grupos de edades, cuya respuesta es similar. Se puede alegar que en este caso los animales con más de seis años no han sufrido el deterioro de sus sistemas orgánicos e inmune por la acción del virus de la anemia infecciosa equina. Coincidimos con Vanselow (1987) quien planteó que el levamisol no estimula la respuesta inmunológica por encima de los niveles normales.

En la tabla 4 se expresa el comportamiento de los linfocitos por grupos de edades en animales no portadores del virus de la enfermedad. En los dos casos los grupos experimentales aumentan significativamente con res-

**Tabla 5. Comportamiento hematológico de los animales de 3 a 6 años portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Grupo	Grupos de 3 a 6 años							
	Portadores				No portadores			
	Control		Experimental		Control		Experimental	
Días	0	14	0	14	0	14	0	14
Hto	31,12b	31,2b	31,10b	31,8b	33a	32,6a	32,8a	34,6a
Hb	10,35	10,32a	10,34a	10,8a	11,22a	11,2a	11,06a	11,64a
Leucocitos	8108b	8110b	8098b	9123a	8777a	8803a	8716a	9061a
Linfocitos	44c	42c	42,5c	59a	44,2c	43,7c	42,6c	52,5b

En las filas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), según prueba de Newman-Keuls

<b>Tabla 6. Comportamiento de los linfocitos en animales de 3 a 6 años de edad</b>					
Grupo de 3 a 6 años	Grupos	Días	Linfocitos estimulados	Linfocitos T	Linfocitos B
Portadores	Control	0	36,5c	71c	29a
		14	37c	70,3c	29,7a
	Experimental	0	36c	73c	27b
		14	71a	87 <sup>a</sup>	13c
No Portadores	Control	0	36,5c	74c	26b
		14	37c	70,3c	29,7a
	Experimental	0	36c	73c	27b
		14	50,6b	80b	20c

En las columnas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa ( $P < 0,05$ ), según prueba de Newman-Keuls.

pecto al control en el nivel de estimulación y de linfocitos T, pero no difieren entre ambos grupos de edades, evidenciándose que los animales no portadores de la AIE manifiestan reacciones similares frente al levamisol como inmunoestimulante, aunque no pertenezcan al mismo grupo etario.

Se aprecia en la tabla 5, el comportamiento hematológico de equinos de 3 a 6 años de edad portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina. Los animales portadores del virus, a pesar de presentar valores de leucocitos dentro del rango normal, manifiestan diferencias significativas con respecto a los valores del grupo de los no portadores, lo que pone de manifiesto el carácter inmunosupresor de esta enfermedad referido por Nakajima y Sugiura (1994). Entre ambos grupos se aprecia diferencias significativas para los valores de hematócrito y por ciento de linfocitos, y reaccionaron mejor los animales más deprimidos inmunológicamente, lo que coincide con Rahway (1993) quien plantea que el levamisol tiene poco o ningún efecto sobre el sistema inmunitario de los animales sanos.

La tabla 6 refleja el comportamiento linfocitario de animales portadores y no portadores del virus de la AIE de 3 a 6 años. Se demuestra lo planteado por Vanselow (1987) que el levamisol tiene poco o ningún efecto sobre el sistema inmunitario de los animales sanos, al encontrar una respuesta superior en los animales positivos de tres a seis años con respecto a los negativos de su misma edad en cuanto a linfocitos estimulados y por ciento de T.

La tabla 7 refleja el comportamiento hematológico de equinos con más de 6 años de edad portadores y no portadores del virus de la enfermedad. Se aprecia la disminución significativa del hematócrito en los enfermos, sin diferencia en los demás parámetros evaluados, porque a pesar de los portadores manifestar cierta depresión del sistema inmune no responden mejor a la estimulación debido a la debilitación que ha sufrido su organismo por la acción directa del virus de la AIE.

La tabla 8 refleja el comportamiento linfocitario de los animales mayores de seis años. No se encontró diferencia significativa en el por ciento de células estimuladas y linfocitos T entre portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina, debido al desgaste sufrido por su sistema inmune, que no es capaz de responder con la misma intensidad de los animales más jóvenes.

## CONCLUSIONES

- El levamisol es efectivo como inmunoestimulante en equinos. Provoca una reacción inmunológica más intensa en animales de 3 a 6 años portadores del virus de la anemia infecciosa equina.
- La edad no influye en la inmunorreacción estimulada por el levamisol en los equinos no portadores del virus de la AIE.
- Es aconsejable aplicar el levamisol como inmunoestimulante en equinos portadores del virus de la anemia infecciosa, para estimular la inmunorreacción y prolongar su vida útil.

## REFERENCIAS

- BABIUK, A. Y T. MIRSA: Levamisol and Bovine Immunity in vitro and in vivo Effects in Immune Response to Herpes Virus Immunization, *Canadian Journal of Microbiology*, Canada, 27: 1312–1319, 1981.
- BIASATTI, ELENA: AIE Symp. Quarter Horse, *JAVMA*, 1984.
- BOFILL, P.; A. RIVAS, W. RAMÍRES, J. MONTAÑEZ, A. MARTÍNEZ, T. QUINCOSES, R. GONZÁLEZ Y E. FUSTES: Manual de enfermedades infecciosas, t. II, pp. 332–343ed. Revolucionaria, La Habana, 1996.
- BRUNNER, T. Y C. MUSCOPLAT: Inmunomodulatory Effects of Levamisol, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, USA, 176. 1159–1169, 1980.

CHAMIZO, E.: Inmunidad. Patología especial y diagnóstico de las enfermedades de los animales doméstico, 1ra. ed., pp. 30–35, Ed. Tomás Di Bella, México, 1995.

ENSMINGER, E.: *Horses and Horsemanship*, Sixth Edition, pp.268–269, 1990.

MINAGRI.: Diagnóstico veterinario. Norma ramal 870/86. Coloraciones especiales, técnica histoquímica, Ministerio de la Agricultura, Cuba, 1986.

NAKAJIMA, H. Y T.SUGIURA: Equine Infectious Anemia—Research in Japan on the Virology, Immunology, Pathogenesis and Control, *J. Equine. Sci*, 5 (1): 1–19, 1994.

RAHWAY, N. J.: El manual MERCK de veterinaria, pp. 31-32, Océano/Centrum, EUA, 1993.

VANSELOW, A: The Application of Adjuvants to Veterinary Medicine, *Veterinary Bulletin*, 57 (11): 881–893, 1987.

VILLA, ALEIDA; F. JEREZ, ALBA REPILADO, ALBERTINA REYNA Y NIDIA HEREDIA: Demostración de la presencia del virus de la AIE en cultivos celulares de monocitos en sangre de burros y células caninas, *Ciencias Veterinarias*, 20 (3): 229-248, 1989.

**Tabla 7. Comportamiento hematológico de los animales de más de 6 años portadores y no portadores del virus de la anemia infecciosa equina (AIE)**

Grupos	Grupos de más de 6 años							
	Portadores				No portadores			
	Control		Experimental		Control		Experimental	
Días	0	14	0	14	0	14	0	14
Hto	29b	28,7b	29,2b	30b	32,1a	32,4a	32,2a	33a
Hb	9,12a	9,15a	9,21a	9,95a	11,2a	11,9a	11,1a	11,12a
LC	8006a	8000a	8012a	8483a	8887a	8716a	8857a	9033a
LF	43,4b	41b	41,3b	51a	43b	41b	40b	50,6a
HP0	0	0	0	0	0	0	0	0

En las filas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa (P<0,05), según prueba de Newman-Keuls.

**Tabla 8. Comportamiento de los linfocitos en animales de más de 6 años de edad**

	Grupos	Días	Linfocitos estimulados	Linfocitos T	Linfocitos B
Portadores	Control	0	33,7b	74b	26a
		14	31b	73b	27a
	Experimental	0	33,66b	73,5b	27,5a
		14	47a	79,5a	20,5b
No Portadores	Control	0	33,7b	74b	26b
		14	33b	73b	27b
	Experimental	0	32,4b	74,6b	25,4b
		14	49a	79,6a	20,4b

En las columnas, las medias con superíndices diferentes presentan diferencia significativa (P<0,05), según prueba de Newman-Keuls