

2014

## Efecto del entrenamiento en los valores hematológicos de equinos árabes y anglo-árabes de enduro

Juan Camilo Camacho Tobón  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Andrés Lozano Gutierrez  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria)



Part of the [Large or Food Animal and Equine Medicine Commons](#)

---

### Citación recomendada

Camacho Tobón, J. C., & Lozano Gutierrez, A. (2014). Efecto del entrenamiento en los valores hematológicos de equinos árabes y anglo-árabes de enduro. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/201](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/201)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO EN LOS VALORES HEMATOLÓGICOS DE  
EQUINOS ARABES Y ANGLO-ARABES DE ENDURO  
TESIS**

**JUAN CAMILO CAMACHO TOBÓN  
ANDRÉS LOZANO GUTIERREZ**

**BOGOTA D.C., 2014**

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA**



**EFFECTO DEL ENTRENAMIENTO EN LOS VALORES HEMATOLÓGICOS DE  
EQUINOS ARABES Y ANGLO-ARABES DE ENDURO  
TESIS**

**PRESENTADO POR  
JUAN CAMILO CAMACHO TOBÓN  
14082079  
ANDRÉS LOZANO GUTIERREZ  
14082054**

**DIRIGIDO POR  
CECILIA DEL PILAR CALVO ROBAYO , M.V., M.SC.**

**BOGOTA D.C., 2014**

## APROBACIÓN

DIRECTORA

Cecilia del Pilar Calvo Robayo , M.V., M.Sc.

JURADO

Carlos Andrés Trujillo Jurado M.V., M.Sc.

JURADO

German Alonso Prada Sanmiguel, M.V. MSc

## DIRECTIVOS

<b>RECTOR</b>	Hno. Carlos Gabriel Gómez Restrepo
<b>VICERECTOR ACADÉMICO</b>	Hno. Fabio Humberto Coronado Padilla
<b>VICERRECTRO DE PROMOCIÓN Y DESARROLLO HUMANO</b>	Hno. Frank Leonardo Ramos Baquero
<b>VICERECTOR ADMINISTRATIVO</b>	Dr. Eduardo Ángel Reyes
<b>VICERECTOR DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA</b>	Dr. Luis Fernando Ramírez Hernández
<b>DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS</b>	Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto
<b>SECRETARIO ACADÉMICO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS</b>	Dr. Alejandro Tobón González
<b>DIRECTOR PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA</b>	Dr. Juan Fernando Vela

## COMPROMISO

Este trabajo no contiene ideas contrarias a la doctrina católica en asuntos de dogma y moral.

La universidad, la directora y los jurados calificadores no son responsables de las ideas expuestas por el graduando

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestras familias por el apoyo incondicional durante toda la carrera.

A la Doctora Pilar Calvo por la dirección del trabajo y la gran ayuda en el desarrollo del mismo. Al Doctor German Prada y al Doctor Carlos Trujillo por sus aportes en el escrito.

Agradecemos a los docentes que hicieron parte de la formación académica, y a los compañeros con los que vivimos este proceso.

A los propietarios de los animales que nos permitieron involucrarlos en el estudio, gracias por su gran aporte.

## Tabla de Contenido.

1. Resumen.....	9
2. Abstract.....	10
3. Introducción.....	11
4. Planteamiento del problema.....	12
5. Objetivos.....	13
5.1 Objetivo general.....	13
5.2 Objetivos específicos.....	13
6. Hipótesis.....	14
7. Materiales y Métodos.....	15
7.1 Selección de animales.....	15
7.2 Material para toma de muestras.....	15
7.3 Recolección de las muestras.....	15
7.4 Transporte de muestras.....	16
7.5 Procesamiento de las muestras.....	16
7.6 Análisis estadístico.....	18
7.7 Metodología.....	19
8. Marco teórico.....	20
8.1 Origen y clasificación.....	20
8.2 Hematología.....	21
8.2.1 Componentes de la sangre.....	21
8.2.2 Volumen sanguíneo.....	22
8.2.3 Eritrocitos.....	22
8.2.4 Características morfológicas del eritrocito.....	24
8.2.5 Hemoglobina.....	24
8.2.6 Influencia del sexo.....	25
8.2.7 Influencia de la edad.....	25
8.2.8 Valores corpusculares.....	25
8.3 Adaptación fisiológica a la hipoxia en altura.....	26
8.3.1 Transporte de oxígeno.....	26
8.4 Respuesta hematológica al ejercicio.....	30
8.5 Adaptaciones fisiológicas a largo plazo al entrenamiento duro.....	31
8.6 Estado del arte.....	33
9. Resultados y discusión de resultados.....	35
9.1 Análisis descriptivo.....	35
9.2 ANOVA.....	36
9.3 MANOVA.....	37
9.4 Comparaciones múltiples respecto al grupo control.....	38
9.5 Comparaciones múltiples entre grupos de tratamiento.....	39
9.6 Discusión de resultados.....	40
10. Conclusión.....	43
11. Bibliografía.....	44



## Lista de Tablas

- Tabla 1.** Parámetros clínicos de referencia en equinos (5)
- Tabla 2.** Procesamiento de las muestras en equipo ARCUS DIATRON® (7)
- Tabla 3.** Parámetros hematológicos de referencia en equinos adultos. (10)
- Tabla 4.** Parámetros comparativos del eritrocito entre las diferentes especies domesticas (12)
- Tabla 5.** Valores de referencia para equinos. Comparación entre razas de sangre caliente y razas denominadas de sangre fría. (12)
- Tabla 6.** Resumen de las adaptaciones metabólicas y cardiovasculares con entrenamiento de enduro. (21)
- Tabla 7** Analisis descriptivo de resultados (28)
- Tabla 8** ANOVA (29)
- Tabla 9** MANOVA (30)
- Tabla 10** Comparaciones múltiples con grupo control (31)
- Tabla 11** Comparaciones múltiples entre grupos de tratamiento (33)
- Tabla 12** Comparaciones múltiples entre 2 grupos (33)
- Tabla 13** Comparación entre grupos de tratamiento (34)

## 1. RESUMEN

El objetivo de esta investigación es determinar los cambios fisiológicos generados por diferentes grados de entrenamiento en la línea roja de caballos árabes y angloárabes en la sabana de Bogotá. Las muestras se obtuvieron de 60 animales entre los 5 a 9 años (tanto hembras como machos), los cuales se encontraban ubicados en diferentes criaderos. Siendo esta cantidad representativa respecto a la población total registrada de esta raza. La toma de muestras se realizó de la vena yugular, y la sangre fue depositada en tubos con anticoagulante EDTA de 5 ml. Se hizo una sola toma por animal teniendo en cuenta los diferentes niveles de entrenamiento. Las muestras fueron transportadas en nevera de icopor con pilas refrigerantes a una temperatura entre los 2 a 8°C al laboratorio clínico de la Universidad de la Salle para su posterior procesamiento. Se utilizó el de análisis de varianza de un factor, análisis de varianza multivariado y unas pruebas Dunnett de comparación de medias con un nivel de confianza del 99%. Por otro lado al momento de realizar la comparación entre los diferentes grupos experimentales (T1 vs. T2 vs. T3 vs. T4) se puso en práctica un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 15 repeticiones por tratamiento.

Palabras claves: Caballos árabes, angloárabes, Sabana de Bogotá, niveles de entrenamiento, parámetros hematológicos.

## 2. ABSTRACT.

The aim of this research was to determine physiological changes in bloodcount generated by different training intensities, of Arabian and Anglo Arabian horses in a geographical altitude of approximate 2600 meters over sea level, which correspond to Sabana of Bogota. The 60 animals included in the research were between 5 to 9 years of age (both male and female) and are trained at different intensities. The blood samples was collected from the jugular vein and subsequently placed in 5 ml tubes with EDTA anticoagulant. Samples were transported in a portable refrigerator in temperatures between 2 to 8 degrees Celsius, and delivered to the Universidad de la Salle's clinical laboratory. An Analysis of variance, a Multivariate analysis of variance, and a Dunnet-test were used for the statistical analysis with a level of confidence of 99%. On the other hand when comparing between the different experimental groups (T1 vs. T2 vs. T3 vs. T4) a completely randomized design with 4 treatments and 15 repetitions per treatment was used.

**Key words:** Arabian and Anglo Arabian horses, Sabana of Bogota, training levels, h hematological parameters.

### 3. INTRODUCCIÓN

Los parámetros sanguíneos utilizados hoy en día en Colombia son de estudios realizados en el extranjero en condiciones ambientales, nutricionales y de acondicionamiento físico muy diferentes a las que se presentan en la geografía Colombiana. Existen grandes variaciones hematológicas en las diferentes razas de equinos debido a que las razas provienen de ancestros diferentes; encontramos la línea de caballos de sangre caliente los cuales son derivados de ejemplares árabes y por otro lado, encontramos los caballos de sangre fría; dicho grupo está compuesto por las líneas de tiro y los pony's. Estudios han demostrado que debido a estos linajes se presentan diferencias a nivel hematológico en los equinos. En investigaciones preliminares se ha encontrado que los animales de sangre caliente presentan mayores valores de concentración de hemoglobina, recuento de células rojas, hematocrito y volumen sanguíneo comparado con los equinos de sangre fría (Schalm, 1975). Además de esto se pueden ver diferencias en los valores hematológicos encontrados en la Sabana de Bogotá en caballos árabes y anglo-árabes con respecto a animales que se encuentran en Norte America y Europa, esto impide al médico veterinario realizar una interpretación correcta de un examen de rutina como lo es el hemograma, además los requerimientos que se tienen en las pruebas de enduro para los caballos, pueden alterarse no por problemas físicos sino en algunos casos siendo una respuesta fisiológica normal a las condiciones geográficas de la sabana de Bogotá.

Lo mencionado anteriormente evidencia la importancia de establecer parámetros que estén acorde a las adaptaciones fisiológicas generadas entre otras por la altura, por la intensidad del entrenamiento físico y las variaciones nutricionales, a la hora de juzgar un caballo que se encuentra en una prueba. Así pues, el principal objetivo del estudio es identificar los cambios hematológicos que se presentan como resultado del entrenamiento en condiciones de altura, obteniendo intervalos hematológicos de caballos árabes en la altura de la sabana de Bogotá, comparando los resultados entre los diferentes grupos de entrenamiento con respecto al grupo control y entre los diferentes grupos de entrenamiento.

#### 4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En medicina humana existen amplios estudios de la respuesta eritrocitaria al ejercicio, permitiendo un correcto entendimiento de dicho fenómeno, lo que a su vez brinda las herramientas y parámetros adecuados para establecer y evaluar protocolos de entrenamiento eficaces para los diferentes atletas. Sin embargo, en las especies domésticas en este caso, la equina, y más específicamente en las razas árabe y anglo-árabe no se han realizado avances investigativos en esta área, razón por la cual todavía existen vacíos con respecto al comportamiento de la línea roja frente a la exigencia física, y por ende no se tienen parámetros seguros que permitan evaluar el desempeño de equinos de alto rendimiento utilizadas para pruebas de enduro. Por lo tanto surgió la necesidad de realizar un estudio que profundice en el área de hematología para facilitar entender, caracterizar dicho fenómeno y así iniciar el desarrollo de rutinas de entrenamiento que vayan enfocadas a un óptimo rendimiento de estos animales. .

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Identificar los efectos que causa el entrenamiento y la intensidad de este sobre la línea eritrocitaria de equinos sanos de raza árabe y anglo-árabe empleados en pruebas de Enduro, que viven en la sabana de Bogota a una altitud aproximada de 2600 msnm.

### 5.2 Objetivos específicos.

Evaluar los parámetros de la línea eritrocitaria (hematocrito, hemoglobina y número de millones de glóbulos rojos) de equinos de raza árabe y anglo-árabe no entrenados, y compararlos con la evaluación de la línea eritrocitaria de equinos de raza árabe y anglo-árabe entrenados para las pruebas de enduro en la Sabana de Bogotá.

Comparar los parámetros de la línea eritrocitaria (hematocrito, hemoglobina y número de millones de glóbulos rojos) de equinos de raza árabe y anglo-árabe no entrenados con equinos entrenados para pruebas de enduro en la Sabana de Bogotá en la modalidad de 40 km, 80 km y de 120 – 160 km.

## 6. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H0) = Las rutinas de entrenamiento no producen cambios en la línea eritrocitaria de caballos árabes y angloárabes con respecto a animales similares sin entrenamiento.

Hipótesis alterna (H1) = Las rutinas de entrenamiento producen cambios en la línea eritrocitaria de caballos árabes y angloárabes con respecto a animales similares sin rutina de entrenamiento.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Selección de animales

Para el muestreo se utilizaron 60 animales de la raza árabe y anglo árabe los cuales se encuentran localizados en la sabana de Bogotá a una altura de 2600 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Instituto Colombiano Agustín Codazzi, 2014) y una temperatura promedio de 18°C. Se utilizaron tanto machos como hembras con un rango de edad entre 4 a 11 años. Los animales pasaron por un examen clínico completo que garantizó que se encontraban clínicamente sanos. Este examen se compone de: frecuencias cardíaca y respiratoria, temperatura, tiempo de llenado capilar, color de mucosas y pulso los valores de referencia de estos parámetros se encuentran descritos en la Tabla 1.

Se descartaron hembras preñadas, así como animales menores a 4 años y mayores a 11 años, además de los individuos que se encontraran fuera de los rangos normales al examen clínico. No se tuvieron en cuenta otras razas diferentes a las mencionadas anteriormente.

Tabla 1. Parámetros clínicos de referencia en equinos

Parámetro	valor referencia
frecuencia cardíaca	20-40 lpm
frecuencia respiratoria	10-20 rpm
Temperatura	37.5- 38.5 c
TLLC	2 seg.
Mucosas	rojo rosa pálido
Pulso	fuerte lleno y concordante

Tomado y modificado de: (Cordero et al. 2000)

Cómo parámetro de inclusión complementario se tuvieron en cuenta ejemplares que estaban sin entrenamiento y ejemplares con tres tipos de entrenamiento diferente según el nivel de competencia. Los niveles de entrenamiento son: para pruebas de 40km., 80km y 120-160km. Además de esto, los ejemplares seleccionados presentaron valores clínicos dentro de los rangos establecidos anteriormente y cumplieron con la edad establecida y la raza descrita. Todo individuo que fue tenido en cuenta no presentó ninguna alteración clínica hasta un mes antes de la toma de muestra.

### 7.2 Material para toma de las muestras

Para la toma de muestra se utilizaron tubos con anticoagulante EDTA, set BD vacutainer® (sistema toma de muestra tubos al vacío, aguja calibre 21G x 1 ½" y camisa, Becton Dickinson).

### 7.3 Recolección de la muestra.

El animal entró en el brete de contención para la toma de muestra de sangre. Se realizó entre las 8 am a las 11 am, dependiendo de la programación de los criaderos. En algunos criaderos no había brete de contención, por lo que solo se contuvo el animal con un cabezal.



Posterior a la contención del animal se realizó la correcta antisepsia de la región del surco yugular con alcohol, seguido a esto se procedió con la venopunción de la yugular por medio del set BD vacutainer® . Esta venopunción se realizó en un ángulo de 45 grados con respecto a la vena yugular del animal. Una vez asegurada la punción se conectó el tubo con anticoagulante EDTA al set y se obtuvo la muestra de sangre. Cuando el tubo se llenó, se prosiguió con la retirada del tubo de la aguja primero, y después de esto se retiró la aguja de la vena yugular, y con un algodón se realizó presión sobre el sitio de punción para evitar sangrado. Los tubos se mezclaron suavemente con el anticoagulante lo que aseguró la homogenización de la muestra y evito la formación de coágulos. Los tubos se rotularon debidamente para almacenamiento y transporte.

#### **7.4 Transporte de muestras**

El objetivo principal del transporte de muestras hacia el laboratorio es mantenerla dentro de lo posible, de la manera mas parecida a su estado original. Para conservar la integridad de la muestra se deben evitar condiciones ambientales adversas, cambios rápidos de presión durante el transporte entre otras (Koneman et al., 2008).

La temperatura afecta la estabilidad de la muestra de sangre aunque no todas las propiedades requieren la misma temperatura para mantener su estabilidad (Gómez et al, 2011).

Se deben tener en cuenta situaciones referentes a la temperatura para conservar la integridad de la muestra.

- Temperatura ambiente. Las muestras pueden ser transportadas a temperatura ambiente (18° - 25°C) siempre y cuando el tiempo desde la recolección de la muestra hasta el procesamiento de esta no exceda las 6 horas.
- Temperatura de refrigeración. Es la temperatura que comprende entre 4° a 8°C . la sangre en condiciones de temperatura de refrigeración inhibe el metabolismo de las células y estabiliza algunos constituyentes termolábiles.

Además de estas condiciones, se debe tener en cuenta la orientación de los tubos, ya que deben ir en posición vertical y asegurarse que el tapón este debidamente cerrado para evitar que las muestras se derramen o exista evaporación de la porción líquida de la sangre.

La agitación de la muestra es otro aspecto que se tiene que tener muy en cuenta. Durante el transporte se debe evitar movimientos bruscos que pueden causar alteraciones como hemólisis, la cual afecta la lectura de los resultados. Además de esto se debe evitar la exposición a la luz artificial y natural, muchas propiedades son fotosensibles (Gómez et al, 2011).

Para la refrigeración de las muestras se utilizó una nevera de icopor con pilas refrigerantes las cuales no tuvieron contacto directo con los tubos para evitar la hemólisis o cualquier alteración en las muestras y así asegurar la fidelidad de los resultados. La temperatura promedio que brinda dicha nevera es de 4° - 8°C. Las muestras fueron transportadas en un periodo de no más de 4 horas al laboratorio para realizar su respectivo análisis.

#### **7.5 Procesamiento de las muestras**

Las muestras se procesaron en un equipo automatizado ARCUS DIATRON® de BioSystems S. A. (Costa Brava, Barcelona España) que brinda 18 parámetros

hematológicos (WBC-LYM#-MID#-GRA#-LYM%-MID%-GRA%-HGB-RBC-HCT-MCV-RDW-MCH-MCHC-PLT-MPV-PCT-PDW) a partir de una muestra de 25µL, sin embargo también se realizó un proceso de corrección manual del hematocrito con microcentrifuga y la corrección manual del diferencial de glóbulos blancos. El tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta el procesamiento de esta fue de aproximadamente 4 horas.

En la tabla 2 se muestra los parámetros y el método utilizado para la obtención de los resultados procesados en el equipo ARCUS DIATRON®

Tabla 2. Descripción de los parámetros realizados en el equipo ARCUS DIATRON® y el procedimiento utilizado

Glóbulos Blancos – WBC (Células /L, células / microlitro)	Numero de leucocitos WBC= WBC calculado x (células/L, células / microlitro)
Glóbulos Rojos - RBC (Células /L, células / microlitro)	Numero de eritrocitos RBC= RBC calculado x (células/L, células / µlitro)
Concentración de hemoglobina – HGB (g/dL, g/L, mmol/L)	Mide fotometricamente a 540 nm; en cada ciclo la medición de realiza en blanco diluyente HGB= HGB calculado x (HGB mezcla de hgb con reactivo – HGB medida en blanco)
Volumen corpuscular medio VCM (fL)	El volumen medio de eritrocitos individuales derivados del histograma de glóbulos rojos.
Hematocrito (Hto)	calculado a partir de los glóbulos rojos y los valores de VCM Hto porcentaje = RBC x VCM x 100 Hto absoluto = RBC x VCM
Hemoglobina corpuscular media (HCM)	Contenido medio de la hemoglobina en los hematíes, calculado a partir de RBC y los valores de HGB HCM = HGB / RBC
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) (g/dL, g/L, mmol/L)	Calculado a partir de los valores de hemoglobina y hematocrito. CHCM = HGB / Hto absoluto (g/dL, g/L, mmol/L)
Ancho de distribución de células rojas y ancho de distribución de plaquetas. (fL)	La amplitud de la distribución de los hematíes o plaquetas. Población derivada a partir del histograma en el 20% del pico.
Ancho de distribución de células rojas y ancho de distribución de plaquetas. (absoluto)	XdW-SD=RDW calculado x (P2-P1) (fL) XdW-CV= 0.56 x RDW calculado x (P2 – P1)/(P1+P2) Por el factor de 0.56 CV se corrige al corte del 60%
Plaquetas – PLT (Células /L, células/µL)	Numero de trombocitos (PLT) PLT = PLT calculado x (Células /L, células/µL)
Volumen plaquetario medio MPV (fL)	El volumen medio de plaquetas individuales derivados de la PLT histograma
Plaquetocrito – PCT (Porcentaje, Absoluto)	Calculado a partir del PLT y los valores de los MPV. PCT porcentaje = PLT x VP x 100 PCT absoluto = PLT x MPV
Diferencial de Glóbulos Blancos Monocitos, algunos granulocitos y eosinófilos	Valores absolutos en las 3 series celulares

Neutrófilos eosinófilos y basófilos	RCB-LYM discriminador LYM-MID discriminador MID-GRA discriminador
-------------------------------------	---

Tomado y modificado de: Manual Arcus Hematology Analyzer, User`s manual 2.1 release

## 7.6 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó una prueba de análisis de varianza (ANAVA) de un factor, el cual permite confirmar la hipótesis nula de que las medias de N poblaciones (N>2) son iguales, o rechazarla la cual plantearía que por lo menos una de las poblaciones difiere de las demás.

El modelo que se implemento fue el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \mu_i + e_{ij}, \quad i=1,2,\dots, t, \text{ y } j= 1,2,\dots,n_i$$

Aquí  $y_{ij}$  es la respuesta de la j-ésima unidad experimental asignada al i-ésimo tratamiento,  $\mu$  es la media general, y  $\mu_i$  es el efecto del tratamiento i respecto a la media general. Para verificar la igualdad de las medias de los t tratamientos se hace un análisis de varianza. Las hipótesis son:

$$\begin{aligned} H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_t \\ H_a: \text{Al menos un } \mu_i \neq 0 \end{aligned}$$

También se realizó un análisis de varianza multivariado (MANOVA) para complementar el ANOVA,

Se considera la estructura de correlación de las variables, por tanto se desarrolla sobre los mismos datos un Análisis de Varianza Multivariado (MANOVA). El modelo en ese caso es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \mu_i + e_{ij}, \quad i=1,2,\dots, t, \text{ y } j= 1,2,\dots,n_i$$

En particular  $n_1 = n_2 = n_3 = n_4 = 15$  y  $N = 60$ . Mediante la hipótesis nula se afirma que los tipos de entrenamiento producen un rendimiento en promedio igual en los valores de cada una de las variables evaluadas; es decir:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

En la mayoría de los estudios se acostumbra a que uno de los tratamientos actúe como grupo control, dado que resulta de interés determinar si las respuestas medias de los tratamientos del grupo experimental difieren de la de un tratamiento control. Puesto que en este caso en particular se busca comparar los tres grupos experimentales (CABALLOS DE 40KM, 80KM, 120KM-160KM) contra un grupo control (CABALLOS SIN ENTRENAMIENTO) se hará uso de una prueba unilateral en donde la hipótesis nula sea que la media del grupo tratamiento sea menor que la del grupo experimental en cada caso. Esta es una prueba Dunnett de comparación de medias con un nivel de confianza del 99%.

## 7.7 Metodología.

Luego de llegar al criadero, se identificaron los animales a ser muestreados los cuales se encontraban en reposo. Se clasificaron en 4 grupos; a. Sin entrenamiento, b. En entrenamiento para recorrer distancias de 40km, c. En entrenamiento para recorrer distancias de 80km y d. En entrenamiento para distancias de 120-160km. Se utilizaron 15 equinos por cada grupo para un total de 60 animales, una sola toma por animal en todo el proyecto. Los ejemplares se sujetaron por medio de un cabezal y se guiaron uno por uno al brete de contención donde se realizó la respectiva inmovilización, una correcta desinfección o antisepsia del surco yugular con algodón y alcohol. Utilizando guantes de látex, se hizo presión sobre la vena yugular en la parte ventral del canal para que ocurra el llenado de tal manera que esta sea más visible. Se procedió a la venopunción con el sistema vacutainer, una vez asegurada la punción se conectó el tubo con anticoagulante EDTA de 5 ml para obtener la muestra de sangre se homogenizó con el anticoagulante para evitar la coagulación. Las muestras se introdujeron en la nevera de icopor la cual contenía pilas refrigerantes, pero estas no tuvieron contacto directo con los tubos de muestra para evitar la hemólisis y otras alteraciones de estas. La temperatura promedio de la nevera oscila entre los 4° a 8°C y las muestras se transportaron en un plazo máximo de 4 horas al laboratorio para su respectivo procesamiento. El análisis de las muestras se realizó en el laboratorio de la Universidad de la Salle, el cual utiliza un equipo ARCUS DIATRON® de BioSystems S. A. Se utilizó una prueba ANOVA, una prueba MANOVA, con un nivel de confianza de 95%, y una prueba Dunnett de comparación de medias, utilizando un nivel de confianza del 99%.

## 8. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

### 8.1 Origen y clasificación

En caballo árabe a sido una de las razas que mas a influenciado el desarrollo de los caballos de silla en América, esto se debe a que es el predecesor de los caballos pura sangre ingles quienes se han encargado de difundir su genética alrededor de todo el continente transfiriendo sus características a través de cruces entre animales puros y con otras razas. Sin embargo a pesar de su gran importancia como antecesor de los caballos ligeros, el origen del caballo árabe no es del todo claro, existen dos hipótesis principales acerca de su historia: A. por un lado algunos autores sugieren que dicho animal proviene de la línea genética de los caballos berberiscos quienes se encontraban situados hacia el norte de África. B. En contraposición otros literatos aseguran que el caballo árabe fue la raza utilizada para el desarrollo de los ejemplares berberiscos; de cualquier manera lo que si esta claro es que estos animales han sido criados y selecciones desde hace aproximadamente 3.000 años y que constituyen la base genética de una gran mayoría de los caballos de sangre caliente a nivel mundial; Entrando como tal al desarrollo de la raza árabe en América nos encontramos con que los primeros registros de estos ejemplares se dieron en 1908 cuando Homer Davenport importara 27 caballos del desierto de Arabia, a través de un registro conocido como el Arabian horse club registry of America, nombre que en 1969 seria modificado a Arabian horse registry of America (AHRA) (Ravazzi, 1994).

Según Evans, en su libro *El Caballo* (1979), para que un caballo pura sangre árabe sea registrado por la AHRA debe cumplir con las siguientes normas:

#### 1. Elegibilidad:

- I. Ser un caballo nacido en estados unidos, Canadá o México, cuyo padre y madre aparezcan incluidos en el registro.
- II. Un caballo importado dentro del vientre de su madre a estados unidos, Canadá o México, cuya madre sea incluida en el registro y cuyo padre esta registrado en un libro genealógico extranjero aprobado.
- III. Un caballo importado a estado unidos, Canadá o México si esta inscrito en un libro genealógico extranjero. Cualquiera que desee importar un caballo árabe deberá ponerse en contacto con el registro donde recibirá una lista de países aprobados, requisitos específicos de calidad y documentación necesarios.

#### 2. Conformación y tipo de árabe:

- I. Cabeza comparativamente pequeña, perfil de la cabeza recto o preferiblemente ligeramente cóncavo por debajo de los ojos, hocico pequeño, ollares amplios, dilatados durante la marcha, ojos oscuros, expresivos, redondos, grandes y bien separados, distancia relativamente corta entre ojos y hocico, mandíbulas profundas con ramas bien separadas, orejas pequeñas finas y bien formadas, labios ligeramente curvados hacia adentro, cuello largo y arqueado, implantado alto y bien unido a una cruz moderadamente alta, espalda larga e inclinada con una buena unión muscular a unas costillas bien arqueadas, antebrazo largo y ancho, canas cortas con tendones robustos, dorso corto, lomo ancho y robusto,

grupa comparativamente horizontal, porte natural de la cola alto. Visto por detrás la cola aparecerá recta, caderas robustas y redondeadas, piernas bien musculadas, huesos planos y rectos, articulaciones robustas, grandes y bien definidas, cuartillas inclinadas con una longitud correcta, cascos redondeados y con un tamaño proporcionado. Alzada 1,42 a 1,52 m con algunos individuos mayores y menores.

- II. Piel de color oscura, capa de colores sólidos, excepto en cara y extremidades, (se permiten manchas blancas en el cuerpo, aunque se consideren inconvenientes en los reproductores), pelo fino.
- III. Los sementales, de forma especial, demostraran una excelente vitalidad , animación, energía, docilidad y equilibrio (Arabian Horse Association, 1996)

## 8.2 Hematología

La hematología es el estudio de la sangre y los diferentes tejidos que componen el sistema circulatorio, que incluye tejidos involucrados en la circulación y almacenamiento de componentes sanguíneos. El examen de la sangre y sus componentes es un procedimiento muy útil por muchas razones, entre las que podemos mencionar la: sangre lleva nutrientes, oxígeno y productos de desecho desde y hacia las diferentes células del cuerpo, lo que refleja algunas alteraciones de la función normal de este (Voigt y Swist, 2011).

El hemograma es un análisis de laboratorio en donde se evalúan de forma cuantitativa y cualitativa los componentes de la sangre tanto celulares (eritrocitos, leucocitos y plaquetas) como no celulares (hemoglobina) (Rincón A. et al, 2010).

### 8.2.1 Componentes de la sangre.

La sangre esta compuesta de células (eritrocitos, leucocitos y plaquetas), circulando en un fluido llamado plasma; Los eritrocitos o glóbulos rojos son las células mas numerosas, con varios millones de eritrocitos por microlitro ( $\mu\text{L}$ ) de sangre en mamíferos, dependiendo de la especie, el conteo de eritrocitos llega a ser aproximadamente de un cuarto a un medio del volumen total de sangre determinado en el hematocrito; plaquetas o trombocitos son el siguiente componente mas numeroso, con un conteo desde  $100 \times 10^3/\mu\text{L}$  en caballos sanos; El conteo de glóbulos blancos es mucho mas bajo y estos se dividen en varios grupos como neutrófilos, linfocitos entre otros ver tabla 3: El plasma se compone principalmente de agua que contiene alrededor de 6 – 8 g/dL de proteínas plasmáticas, y 1.5 – 2g/dL de sales inorgánicas, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas. (Harvey. 2011).

Tabla 3. Parámetros hematológicos de referencia en equinos adultos.

Parámetros	Unidades	Media	Valores
Eritrocitos	$10^8 / \mu\text{L}$	9.85	6.8 – 12.9
Hemoglobina	gr/dL	13.5	11 – 16
Hematocrito	%	39.5	32 – 47
VCM	fL	-	-

HCM	Pg	-	-
CHCM	gr/dL	-	-
Plaquetas	$10^5/\mu\text{L}$	-	-
Leucocitos	$10^3/\mu\text{L}$	9.7	5.4 – 14.3
Bandas	$10^3/\mu\text{L}$	0.10	0 – 0.20
Neutrófilos	$10^3/\mu\text{L}$	4.55	2,1 – 7
Linfocitos	$10^3/\mu\text{L}$	3.5	1.3 – 5-7
Eosinófilos	$10^3/\mu\text{L}$	0.40	0 – 0.80
Monocitos	$10^3/\mu\text{L}$	0.40	0 – 0-80
Basófilos	$10^3/\mu\text{L}$	0.40	0 – 0.20

Tomado y modificado de (Rincón A. et al. 2010)

### 8.2.2 Volumen sanguíneo

El organismo cuenta con un volumen total de sangre que se distribuye de una manera en diferentes órganos y sistemas de tal forma que dicho valor logra mantenerse de forma constante durante todo momento. Esto le permite al organismo lograr responder de manera fisiológica a diferentes eventos como lo son el calor, frío, ejercicio e incluso una hemorragia manteniendo así una volemia constante que no comprometa los valores mínimos requeridos por los diferentes sistemas para funcionar de manera correcta. Este valor esta directamente relacionado con el peso total del individuo, en caballos de sangre caliente el volumen total oscila entre un 10 y 11 % del peso corporal mientras que en caballos de sangre fría este valor es menor y se encuentra alrededor de un 5 a 6% . (Harvey J . 2011)

Hoyos (2004), reportado por Rincón A y Torres M (2010) desglosa dicho porcentaje total en sub-porcentajes correspondientes a los diferentes sistemas orgánicos, atribuyen un 5 % a la reserva esplénica, 15 % a corazón, arterias y arteriolas, 20 % a circulación pulmonar y el 60 % restante a venas y vénulas.

### 8.2.3 Eritrocitos.

El caballo es el único animal que cuenta con reserva esplénica de células rojas, esta reserva varia de 6 a 12 L, y es liberada al cuerpo con un estímulo simpático ante la necesidad de transporte y disponibilidad de oxígeno. Es importante tener en cuenta que cuando el animal se encuentra en reposo, el hematocrito no debe estar alterado por la concentración de glóbulos rojos que se encuentra en el bazo, En estados de nerviosismo o excitación, como por ejemplo durante la obtención de la muestra de sangre se pueden obtener resultados alterados por un aumento transitorio del hematocrito. (Rincon A. et al, 2010)

Todas las células sanguíneas tienen una vida media finita, en los animales sanos estas células se mantienen en un nivel constante, para esto se necesita que las células en circulación sean reemplazadas constantemente mediante la producción y liberación de células desde la medula ósea. En momentos de altas demandas, la producción puede



ocurrir extramedular, en órganos como el bazo, hígado y ganglios linfáticos (Reagan, Sanders y DeNicofa, 1999).

La morfología de los eritrocitos maduros de caninos, felinos, equinos y rumiantes es generalmente muy parecida en lo que respecta a la ausencia de núcleo, coloración rojiza o rojizo-anaranjado, y su forma discoidal bicóncava. Las diferencias están el tamaño, y el grado de palidez central, en orden descendente de tamaño se encuentran los eritrocitos de perros, gatos, caballos, vaca, oveja y por ultimo cabra, como se muestra en la tabla 4 junto con otros parámetros. (Reagan et al. 1999).

Tabla 4. Parámetros comparativos del eritrocito entre las diferentes especies domesticas

Especie	Diámetro (µm)	Palidez central	Efecto Rouleaux	Anisocitosis
Canino	7.0	++	+	-
Felino	5.8	+	++	+
Equino	5.7	+/-	+++	-
Bovino	5.5	+	-	+
Ovino	4.5	+	+/-	+/-
Caprino	3.2	+/-	+/-	+

Modificado de (Reagan , 1999)

Los valores normales conocidos como valores o intervalos de referencia se usan con fines comparativos para identificar anomalías en el cuadro hemático. Estos valores se obtienen de animales clínicamente sanos y con estados fisiológicos similares (edad, raza, estado reproductivo, género, ubicación geográfica) para poder llegar a unos intervalos de referencia ver tabla 5 en los cuales entren la mayoría de los ejemplares similares (Cowell y Tyler, 2002).

Tabla 5. Valores de referencia para equinos. Comparación entre razas de sangre caliente y razas denominadas de sangre fría.

Parámetro	Unidad	Razas de sangre caliente	Razas de sangre fría
Eritrocitos	$\times 10^{12}/L$	8.2 – 12.2	5.9 – 9.5
Hemoglobina	g/L	130 – 170	80 – 140
PCV	L/L	0.32 – 0.48	0.24 – 0.44
MCV	fL	36 – 50	40 – 48
MCH	pg	13 – 19	12 – 17
MCHC	g/L	330 – 390	320 – 380
Leucocitos	$\times 10^9/L$	8.0 – 14.2	6.0 – 12.0
Plaquetas	$\times 10^9/L$	100 – 500	100 – 350
Proteínas totales	g/L	60 – 80	60 – 80
Fibrinógeno	g/L	2 – 4	2 – 4

Tomado y modificado de (Lording, 2008).



#### **8.2.4 Características morfológicas del eritrocito.**

El eritrocito normal del equino mide aproximadamente 5.7  $\mu\text{m}$  de diámetro, es discoide y tiene una palidez central muy leve casi inaparente debido a que su forma bicóncava es mínima en la sección transversal, puede existir un leve grado de anisocitosis, y muestran una tendencia a la agregación de eritrocitos en sangre con anticoagulante llamado efecto Rouleaux (Lording, 2008). En algunos casos, se pueden observar cuerpos de Howell-Jolly en animales clínicamente sanos, pero con mayor frecuencia en animales con anemia severa; esto puede ser un indicador de anemia regenerativa aunque se debe confirmar por un aspirado de medula ósea (Cowell et al. 2002).

El efecto Rouleaux es un término utilizado para la agregación de glóbulos rojos de forma lineal, lo que está influenciado por el número de eritrocitos circulantes y una tendencia de los mismos a la agregación. Los eritrocitos generalmente tienen una carga negativa en la superficie lo que ayuda a que se separen y se repelen entre sí, pero en los equinos esta carga en la membrana es muy débil, lo que hace que esta característica de agregación sea muy común en caballos sanos (Lording, 2008).

La expectativa de vida de un eritrocito equino es de 140 a 150 días en circulación, estos son liberados de la medula ósea como células maduras, ya que el equino no libera reticulocitos a circulación periférica, aun en casos de hemorragia o hemólisis, es por eso que el recuento de reticulocitos en sangre periférica no es posible por lo que no revela una respuesta regenerativa frente a una anemia severa, para determinar una respuesta regenerativa, se debe tener en cuenta anisocitosis aumentada junto con un incremento del Volumen Corpuscular Medio (VCM aumentado entre 10 a 15fL sobre los niveles normales) y en algunos casos por aspirado de medula ósea para determinar número de células inmaduras (Lording, 2008).

Cabe resaltar que la morfología del eritrocito se ve afectada por la adaptación fisiológica a la altura, Los Camélidos Sudamericanos y otros animales muy tolerantes a la vida en la altura, como la cabra y el carnero tienen un menor tamaño de eritrocito que favorece la difusión del oxígeno dentro de la célula, presentando una mayor constante de velocidad de oxigenación celular (Monge et al. 2003).

#### **8.2.5 Hemoglobina**

Este pigmento está almacenado dentro de los eritrocitos, este es el encargado de proporcionar el sitio para la fijación de las moléculas de oxígeno, esto lo realiza por medio de dos sub-unidades compuestas por cadenas de polipeptidos que cuentan con un grupo de Hierro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (Laurent et al. 2006).

Debido a que durante el ejercicio el caballo realiza una contracción esplénica los valores de hemoglobina en sangre se pueden ver aumentados ya que todo este contenido extra sale directamente al torrente sanguíneo incrementando así la concentración de dicha sustancia, esta molécula tiene como objetivo realizar el transporte de moléculas de oxígeno hasta cada uno de los diferentes tejidos a través del cuerpo y a su vez realizar la extracción de

dióxido de carbono hacia el sistema respiratorio para su posterior eliminación (Rincón et al 2010).

### 8.2.6 Influencia del sexo

Rincón A. y Torres M. (2010) reportan que las hembras de raza Pura Sangre Inglés y Cuarto de Milla presentan unos valores eritrocitarios mayores, al igual que la concentración de hemoglobina y el hematocrito, dicha variación hematológica frente al ejercicio se atribuye a la mayor capacidad de almacenamiento de eritrocitos en el bazo por parte de las hembras (Tyler 1999). Los machos pueden presentar mayor hemoglobina dentro del eritrocito que las hembras ya que se han encontrado unos valores de Hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) aumentados (Schalm, 1975).

### 8.2.7 Influencia de la edad

Se ha reportado que los valores de eritrocitos, concentración de hemoglobina y hematocrito alcanzan su punto más alto en animales de aproximadamente 2 años, en dicha edad se estabilizan, y luego disminuyen progresivamente con el paso de la edad. (Schalm, 1975) Por el contrario, los valores de HCM, VCM, y CHCM aumentan a medida que aumenta la edad del animal (Rincón et al. 2010).

### 8.2.8 Valores corpusculares

- **Volumen corpuscular medio (VCM)**

Es un valor que se refiere al tamaño de los glóbulos rojos, y su principal utilidad es la determinación de la presencia de anemia y su tipo (Hawkey & Dennet, 1989)

$$\text{VCM} = \frac{\text{HTO} \times 10}{\text{Recuento total de GR (millones/mm}^3\text{)}}$$

- **Hemoglobina corpuscular media (HCM)**

Es la medida de la masa de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo (Latimer, Mahaffey, & Prassek, 2005).

$$\text{HCM} = \frac{\text{hemoglobina (g/dL)} \times 10}{\text{Recuento total de GR (millones/mm}^3\text{)}}$$

- **Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)**

Representa la relación entre el peso de la hemoglobina y el volumen de eritrocitos, este valor se expresa en gramos por decilitro (Weisser, Kohn, & Vachon, 1983).

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dL)} \times 100}{\text{HTO}}$$

### 8.3 Adaptación fisiológica a la hipoxia en la altura

En 1935, durante una expedición en Chile a los Andes, se demostró que los mamíferos y aves que habitan en la altura presentan una mayor afinidad entre  $O_2$  y hemoglobina (Hb), y que los camélidos de los Andes no muestran una respuesta eritrocítica a grandes alturas (Monge et al., 1991).

La altura en sí es un factor de estrés multifactorial, pero el aspecto más importante es la hipoxia ya que la concentración de  $O_2$  es inversamente proporcional a la altura, es por eso que para los animales y los humanos es un gran reto sobrevivir a grandes alturas. El frío está muy relacionado con el nivel de hipoxia en mamíferos y aves principalmente (Monge et al., 1991).

Para empezar, debemos definir el término "adaptación fisiológica"

La adaptación es un cambio que reduce la tensión fisiológica producida por un componente estresante del medio ambiente total (Bligh & Johnson, 1978). Esto nos lleva a diferenciar 2 términos; adaptaciones fenotípicas y genotípicas. La adaptación fenotípica son los cambios que responden a un desarrollo lento o cambios durante un periodo prolongado en el ambiente. Estos cambios fenotípicos ocurren durante la vida de un individuo y decaen cuando ya no son requeridos. Por otro lado la adaptación genotípica responde a cambios en funciones o formas genéticas de las especies en el ambiente en el que viven.

Otra definición que se maneja es que las "adaptaciones son modificaciones de un organismo que ocurren en presencia de una circunstancia ambiental en particular."

Como ya es bien conocido, el medio ambiente no es constante, por ende el futuro de los individuos depende de la capacidad de cada uno de adaptarse y adquirir ciertas ventajas de supervivencia y reproducción (Bligh, 1976).

Un concepto importante a tener en cuenta para entender completamente como se da la adaptación al medio ambiente es la pre-adaptación. Bock (1959) define que un organismo está preadaptado a una nueva función cuando está habilitado para dejar una función de lado y tomar una nueva como adaptación al medio ambiente. El principio de pre-adaptación radica simplemente en que una estructura puede cambiar su función radicalmente sin alterar mucho su función. Un organismo preadaptado puede llegar a requerir poca o ninguna selección natural a un nuevo medio ambiente comparado con otros organismos los cuales no tienen esa capacidad de pre-adaptación (Bock, 1959).

#### 8.3.1 Transporte de Oxígeno

El transporte de oxígeno es un tema de mucha importancia ya que las variaciones medioambientales determinan muchos de los factores para esta función. La ventilación o función ventilatoria es uno de esos factores que alteran el transporte de  $O_2$ . La primera línea de transporte de oxígeno del medio ambiente hacia la sangre es la función

ventilatoria, la cual es el parámetro de adaptación mas importante durante un ascenso a grandes alturas. Se ha demostrado que mamíferos como yaks, ovejas, vacas, llamas, entre otros que habitan en lugares de hipoxia, hiperventilan en respuesta a hipoxias agudas. En contraste, otro mamíferos grandes entre los cuales se encuentran los humanos, no muestran ese aumento de la ventilación en respuesta a hipoxia, y que nativos de altura muestran menor aumento ventilatorio que nativos de zonas bajas. La respuesta ventilatoria a hipoxia o (RVH) es baja si existe un alto nivel de afinidad entre la hemoglobina y el  $O_2$ . Se ha demostrado que la RVH también tiene un componente genético en humanos, (Monge et al., 1991). Con esto se puede determinar que la RVH esta dada por muchos factores y se altera por muchas otras condiciones medioambientales que presionan a los organismos para adaptarse.

En algunos estudios se ha visto un aumento en la congestión vascular y un mayor tamaño de la carótida en animales nativos de altura, pero como estos resultados no se han encontrado en llamas o alpacas que son animales fisiológicamente adaptados a grandes alturas, entonces no se ha tenido muy en cuenta como una variación fisiológica importante en la altura (Bouverot & Bureau, Ventilatory acclimatation and acid base balance in carotid chemodenervated dogs at 3550 m, 1975). Los animales genéticamente adaptados a la altura como las llamas, gansos de los andes entre otros, usan como primera medida el aumento de flujo sanguíneo como respuesta adaptativa, a diferencia de los animales aclimatados que en respuesta a la hipoxia redistribuyen el flujo sanguíneo, aumentándolo a órganos mas dependientes del  $O_2$  (cerebro, corazón) y disminuyendo este flujo a músculos, bazo e intestino. Con esto se puede ver que la aclimatación lo que hace es generar cambios fisiológicos que favorecen las funciones vitales del cuerpo y sacrificando otras funciones del cuerpo, cosa que no ocurre en los animales adaptados a la altura. Esto demuestra que animales adaptados fisiológicamente a la altura presentan variaciones o capacidades hemodinámicas adicionales para adaptarse a la hipoxia presente en la altura, y esto se ha dado probablemente por selección natural (Monge et al., 2003).

Otro factor que se afecta en un ambiente hipóxico es la circulación pulmonar. Se conoce que una respuesta a la disminución de  $PO_2$  es el aumento de presión arterial pulmonar. Esta es una respuesta vasoconstrictora a la hipoxia, que en un principio debería ser beneficiosa para corregir la hipoxia a nivel tisular, ya que aumenta la perfusión de zonas del pulmón normalmente poco perfundidas, pero cuando se trata de hipertensión pulmonar de altura, genera una hipertrofia cardiaca derecha. Esta hipertrofia sobrecarga la circulación derecha y es la responsable de la perdida de la adaptación fisiológica del hombre y otras especies que no habitan en la altura de manera natural. Animales adaptados a la altura presentan una respuesta hipertensiva pulmonar menor y menos variable, así como una menor hipertrofia vascular del árbol pulmonar. El hombre, y otros animales cuyo hábitat natural no es la altura, presentan una mayor muscularización de las arterias pulmonares, el cual es un factor determinante para la desadaptación a la altura. Por el contrario, animales genéticamente adaptados a la altura, estarían protegidos de la sobrecarga del corazón derecho. (Monge et al., 2003)

Otro mecanismo de adaptación a la altura involucra al miocardio y su nivel de respuesta a estímulos determinados. Este se ve afectado por el nivel de eritremia de altura, la hipertensión pulmonar y los efectos del sistema nervioso autónomo sobre la frecuencia cardiaca y la presión arterial. Animales que habitan en la altura presentan una frecuencia

cardiaca menor en respuesta a una estimulación adrenérgica. Esto se debe a una disminución de la sensibilidad del corazón a la estimulación por el sistema adrenérgico, y/o al aumento de la sensibilidad cardiaca a la estimulación del sistema parasimpático. Esto está relacionado al fenómeno de desensibilización de los receptores beta-adrenérgicos y una disminución de la actividad de la adenilato ciclasa (Monge et al., 2003).

La saturación de oxígeno arterial ( $\text{SaO}_2$ ) se ve disminuida en la altura, pero también se puede observar un incremento de la hemoglobina lo que normaliza, o inclusive aumenta, el contenido de  $\text{O}_2$  en arterias y venas. La policitemia es una condición que se ha descrito en animales en la altura, y como ya es un hallazgo normal, se ha tomado como algo fisiológico. Animales domésticos introducidos a ambientes de montaña en tiempos recientes muestran diferentes grados de policitemia, mientras que animales con adaptación genotípica a la altura como las llamas, alpacas y vicuñas, muestran un muy leve aumento del hematocrito, o inclusive ninguno. El valor promedio de hematocrito en alpacas a una altura de 3,300 msnm es de 27%, y el de llamas a una altura de 1610 msnm es de 29.5%, siendo estos los valores de hematocrito más bajo registrado en mamíferos. Los camélidos de Suramérica tienen valores bajos de hematocrito, pero la Hb dentro de los eritrocitos es la más alta en la escala de los mamíferos. En humanos se encontró que generalmente, el hematocrito de la población nativa del Tíbet y Nepal es menor que aquel de poblaciones nativas de los Andes en alturas comparables. Esto demuestra que la adaptación sí tiene un componente genético que afecta la fisiología de cada organismo ((Cosio & Yataco, 1968).

Otro de los aspectos a tener en cuenta dentro de la fisiología de la altura es la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, ya que garantiza la captación de esta por parte de los glóbulos rojos. Monge et al en el 2003 describe que el gradiente de presión parcial de oxígeno ( $\text{PO}_2$ ) entre la sangre y los tejidos depende de factores como la concentración de la Hb, afinidad de la Hb por el  $\text{O}_2$  y del flujo sanguíneo. Existen animales que no están genéticamente adaptados a la altura sino aclimatados, que responden con un aumento de Hb de baja afinidad por el  $\text{O}_2$ , para así aumentar las concentraciones de  $\text{O}_2$  en sangre arterial y corregir parcialmente la caída de  $\text{PO}_2$  a nivel tisular. Es así que los animales sin adaptación a la altura responden con eritremia más no con Hb de alta afinidad por el  $\text{O}_2$ . Esta característica es específica para cada especie, raza e incluso particular de cada individuo; sin embargo dicha propiedad se ve afectada por diferentes factores tanto ambientales como genéticos. Se considera genético ya que aun trasladando a un animal de altura a nivel del mar, sigue transmitiendo el carácter de alta afinidad de la Hb por el  $\text{O}_2$  a sus descendientes. Sin embargo, se ha encontrado esta característica en animales que llevan apenas 500 años de evolución en la altura, como es el caso de la gallina (*Gallus gallus*) lo que replantea la teoría de que esta característica para la altura es un carácter fijo e inalterable para cada especie (Monge et al., 2003). Otro claro ejemplo de pre adaptación genética es la familia de los camélidos pues a pesar de que estos se encuentran distribuidos por diferentes regiones geográficas y varios continentes, ejemplares que se encuentran en la cadena montañosa andina a grandes altitudes presentan valores de afinidad de la hemoglobina al oxígeno muy similares a individuos que habitan zonas desérticas que se encuentran a nivel del mar, razón por la cual se le atribuye dicha característica de hemoglobina de alta afinidad al oxígeno a esa familia en específico. Por otro lado nos encontramos diferentes especies de aves que fueron introducidas en los Andes durante la época de la conquista. Esta especie no contaba con pre adaptación genética, por la cual tuvo que adaptarse realizando cambios en sus propiedades

hematológicas que luego fueron refinadas a través de la selección natural, esto es conocido como adaptación fenotípica. Más específicamente la literatura reporta que los animales adaptados genotípicamente presentan valores de alta afinidad de hemoglobina a oxígeno y la presencia de una policitemia leve o ausente, mientras que los animales adaptados fenotípicamente presentan valores de afinidad de hemoglobina a oxígeno bajos y la presencia de policitemia moderada.

Los mecanismos por los cuales se obtiene una Hb de alta afinidad por el O<sub>2</sub> son muy variados. Se pueden presentar modificaciones de los aminoácidos de las cadenas que conforman la hemoglobina, o en los sitios de unión de la Hb con el O<sub>2</sub>. Se ha encontrado que la P50 (PO<sub>2</sub> a la cual la Hb se satura al 50%) es menor en animales que habitan en la altura y están adaptados (Monge et al., 1991).

Los dos parámetros nombrados anteriormente son de gran utilidad para medir la capacidad de adaptación de un animal a las condiciones hipóxicas en la altura debido a que están directamente relacionados con la cantidad de oxígeno a nivel tisular. El transporte de oxígeno desde el aire hasta los tejidos está dividido en tres pasos principales, aire inspirado a pulmones, oxígeno en pulmones a sangre y oxígeno en sangre a tejidos por lo tanto los mecanismos de adaptación para lograr dicho procesos de la manera más efectiva también son parámetros utilizados para la validación de la adaptación de un animal a la altura. Cuando un individuo se encuentra en la altura debe realizar ciertos cambios adaptativos para realizar los tres pasos de la manera más eficiente. Para garantizar una buena inspiración de aire del exterior hacia los pulmones el animal realiza un incremento en su frecuencia ventilatoria logrando así la entrada del volumen correcto de oxígeno a pulmones cumpliendo con el primer paso cabe aclarar que esto por lo general ocurre en animales fenotípicamente adaptados. Luego realiza un incremento en el proceso de difusión de oxígeno hacia el torrente sanguíneo el cual va a depender principalmente de las concentraciones de hemoglobina, su afinidad y del flujo sanguíneo. En animales genotípicamente adaptados por lo general dichos valores no se verán alterados al enfrentarse a la hipoxia por altura pues ya están genéticamente pre adaptados, en contraste aquellos especímenes adaptados fenotípicamente van a generar una policitemia para así tener mayor disponibilidad de glóbulos rojos que permitan el transporte de oxígeno y a su vez ocurrirá un proceso de hipertensión pulmonar de tal forma que el flujo sanguíneo también se vea aumentado. Por último para lograr de la manera más eficiente el último paso el individuo genera un incremento en la densidad capilar de tal manera que se facilite el proceso de difusión de oxígeno hacia los tejidos o reduce el diámetro de las fibras musculares en ciertos tejidos específicos (Bouverot, adaptation to altitude hypoxia in vertebrates., 1985)(West, 1982) (Krogh, 1919)

Dentro de los mecanismos de adaptación no solo podemos hablar de los animales adultos pues también debemos tener en cuenta los diferentes procesos por medio de los cuales los embriones en desarrollo también realizan su propia aclimatación a las condiciones hipóxicas medio ambientales. En el caso de las aves se presenta un conflicto de intereses ya que la entrada de oxígeno hacia el interior del huevo se realiza a través de los mismos poros que permiten la retención de agua por lo tanto al dilatar dichos poros para una mayor difusión de oxígeno hacia el interior también se incrementa la velocidad en la pérdida de agua. Este fenómeno ha sido un fuerte tema de análisis y estudios han comprobado que dependiendo la altura sobre el nivel del mar el embrión opta por lograr de mejor manera uno de los dos procesos, si este se encuentra a menos de 2800 metros sobre el nivel del



mar disminuye su porosidad y retiene así mas vapor de agua, mientras que si se encuentra a una altura superior a la nombrada anteriormente el medio ambiente se torna hipóxico y el embrión incrementa la porosidad y permite una mayor difusión de oxígeno a expensas de una mayor pérdida de agua. En el caso de los mamífero ha sido reportado el incremento en el peso y el volumen placentario a los cual podemos sumarle que se ha encontrado una modificación a nivel estructural ya que presentan una mayor capilaridad lo que disminuye las distancias de difusión garantizando una mejor oxigenación. Todo lo anterior podemos catalogarlo como una respuesta adaptativa al medio hipóxico por parte de la madre (Monge et al., 1991).

El desarrollo corporal es un componente que también se tiene en cuenta al momento de la adaptación de un espécimen a grandes alturas. Se ha comprobado que tanto en mamíferos como aves al nacer en la altura retrasan su crecimiento para explicar dicho fenómeno se han planteado dos hipótesis ya que no es totalmente claro por qué ocurre. La primera de ella sugiere que debido a la hipoxia que sufre el animal este disminuye su ingesta voluntaria entrando en un estado de anorexia lo cual conlleva a una ingesta deficiente de todos los componentes involucrados en el desarrollo, por otro lado la segunda hipótesis sugiere que un volumen corporal más reducido es favorable a la hora de adaptarse a la altura ya que el animal tiene menos superficie de contacto con el aire razón por la que pierde menos calor y al mismo tiempo al estar constituido por menos volumen muscular requiere de menores volúmenes de oxígeno para oxigenar la totalidad de los tejidos. Otro aspecto de gran importancia es la edad pues la literatura reporta que cuando los individuos no nacen en grandes alturas pero se movilizan a estas a corta edad estos son capaces de realizar un proceso de adaptación igual a aquellos que han nacidos en dichas alturas, en contraposición si un individuo nace a nivel del mar y se traslada a grandes altitudes pero este ya se encuentra en una etapa de avanzada de madurez este no logra una buena adaptación al medio ambiente hipóxico (Piazza, Lauzon, & Mortola, 1988)

A pesar de que un animal logre un proceso de adaptación exitoso este puede revertirse pues puede ocurrir un fenómeno conocido como perdida de adaptación o enfermedad crónica de la montaña. Los animales que ya se habían adaptado correctamente y que incluso habían vivido en dicho medio ambiente por un tiempo considerable empiezan a presentar un cuadro de policitemia marcada acompañado de una hipertrofia del corazón derecho, la presentación de este fenómeno se le atribuye a un proceso de hiperventilación que por lo general está relacionado con el factor edad. Este se cura por completo trasladando a dicho individuo a una menor altura sobre el nivel del mar. Cabe resaltar que dicha enfermedad no se ha reportado en animales adaptados genotípicamente (Monge et al., 1991).

#### **8.4 Respuesta hematológica al ejercicio**

Es claro que el organismo responde de diversas maneras con respecto a la exigencia física, esto ocurre principalmente debido a que el individuo necesita preservar un nivel de homeostasia en su organismo de tal forma que dicha exigencia no conlleve a daños importantes a nivel orgánico o sistemático. Por lo tanto dicha respuesta va a estar relacionada con el tipo de ejercicio y a su vez por el tiempo del mismo, así entonces la literatura reporta que se debe catalogar en dos tipos principales, por un lado nos

encontramos con la respuesta aguda la cual se caracteriza por el incremento en el consumo de oxígeno (VO<sub>2</sub>) mientras que en el caso de la respuesta crónica como su nombre lo indica se refiere a procesos mas largos que ocurren en el organismos del individuo principalmente de forma adaptativa. La principal manera de diferenciar el tipo de respuesta con la cual el organismo esta respondido al reto físico es que de ser crónica el cambio producido por la misma va a permanecer evidente incluso cuando el individuo ya se encuentra en periodo basal o de reposo mientras que si la respuesta es de origen agudo esta será visible únicamente durante el ejercicio y algunos minutos posterior al mismo. Bien sea de origen agudo o crónico la respuesta se manifestara a través de los diferentes sistemas que componen al individuo y el sistema hematológico mas específicamente la línea roja que en este caso es motivo de estudio no será la excepción. La literatura a nivel humano reporta que en el caso de la respuesta aguda se puede apreciar hemoconcentración debido a la deshidratación por la perdida de líquidos a través de la sudoración, así mismo es visible un incremento en la concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto) y numero de eritrocitos mientras que el volumen plasmático disminuye conllevando así a la disminución del volumen sanguíneo total. Lo descrito anteriormente tiende a aumentar cuando el reto físico es más exigente o ocurre durante un mayor periodo de tiempo, por el contrario este tiende a disminuir entre mayor sea el grado de entrenamiento del atleta. En el caso de la respuesta crónica la cual esta directamente relacionada con el entrenamiento se ha podido apreciar una disminución en los niveles de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto) y conteo eritrocitario mientras que se ha visto un incremento del volumen plasmático complementario a esto se ha vislumbrado un aumento en la eritropoyesis, lo que genera una mayor presencia de glóbulos rojos inmaduros y una baja en los niveles de hierro debido al incremento en el recambio celular, lo que se conoce como anemia del deportista o pseudoanemia. Lo anterior es acompañado de cierto grado de hemolisis intravascular y procesos oxidativos debido a la liberación de radicales libre durante el ejercicio. (Bonilla 2005)

En caballos cuarto de milla, sometidos a diferentes pruebas se logró medir ciertas variaciones hematológicas que se presentaron antes y después del ejercicio. La frecuencia cardiaca aumento un 34% solo con el hecho de que el caballo llegue al punto de partida de la competencia, y al final de esta tuvo un aumento de aproximadamente 120 ppm, lo cual demuestra la respuesta cardiaca al estrés del ejercicio. En cuanto al hemograma, se pudo encontrar una variación en el PCV debido principalmente a redistribución de los fluidos del cuerpo, pero también se encontró un aumento en el hematocrito ya que se presenta una liberación masiva de eritrocitos desde el bazo. Así mismo se pudo ver un leve descenso en la concertación de hemoglobina por eritrocito probablemente debido a la liberación masiva de eritrocitos del bazo. (Kästner, 1999)

### **8.5 Adaptaciones fisiológicas a largo plazo al entrenamiento de enduro.**

El entrenamiento físico esta asociado con adaptaciones fisiológicas específicas para cada tipo de entrenamiento. El enduro conlleva a muchos cambios fisiológicos a nivel músculo esquelético y sistemas metabólico y cardiovascular. Todos estos cambios tienen la habilidad de mejorar el transporte de oxígeno para producción de energía, mejora la capacidad de resistir un ejercicio prolongado con un alto desempeño sin sufrir de ningún tipo de fatiga. (Rivera-Brown A. et al, 2012)



En cuanto a la adaptación metabólica, el entrenamiento enduro causa un incremento en el número de capilares por fibra muscular, y en el número y tamaño de mitocondrias en células musculoesqueléticas. Esta nueva capilaridad que se forma en el músculo permite mayor área de intercambio de gases durante el ejercicio. El aumento de mitocondrias tanto en tamaño como en número, mejora el metabolismo de carbohidratos y lípidos y mejora la capacidad oxidativa y la habilidad de extraer y utilizar el oxígeno de la sangre arterial. (Rivera-Brown A. et al, 2012)

El sistema cardiovascular también sufre ciertas adaptaciones de largo plazo debido al ejercicio continuo. El volumen plasmático y el volumen total de sangre se incrementa notablemente en los primeros 7 a 10 días de entrenamiento. Esto causa una hemodilución relativa y una baja concentración de hemoglobina (pseudopenemia del atleta). La sangre se vuelve menos viscosa lo que permite un mejor flujo a través de los capilares mejorando así la distribución de oxígeno a los músculos activos. (Rivera-Brown A. et al, 2012)

A nivel cardíaco, el aumento del volumen sanguíneo incrementa el volumen diastólico final. El enduro aumenta la masa del músculo ventricular izquierdo junto con una dilatación lo que resulta en contracciones más fuertes y con mayor volumen. Estas adaptaciones aseguran una mejor eyección y volumen total de sangre. (Rivera-Brown A. et al, 2012)

En atletas humanos, algunas adaptaciones típicas al entrenamiento incluyen bradicardia, incremento en el volumen diastólico final, y en el gasto cardíaco. El ritmo cardíaco se disminuye tanto en reposo como durante un esfuerzo sub-máximo. Esto se debe a un incremento en la actividad parasimpática y una disminución en la actividad simpática. Después de 10 semanas de entrenamiento hubo un incremento del 10% en el gasto cardíaco pero sin modificación del ritmo cardíaco (Bain F. et al, 2010).

En equinos, se ha demostrado que durante el estrés del ejercicio, el caballo es capaz de aumentar el consumo de oxígeno y ventilación por un factor de 60 y 30 respectivamente. Este incremento en el consumo de oxígeno se debe a un aumento en la extracción de O<sub>2</sub> y en el volumen sistólico. El ritmo cardíaco es capaz de incrementar desde 25 – 30 lpm (en reposo) hasta 220 – 240 lpm (en ejercicio máximo). (Art & Lekeux, 2005)

Tabla 6. Resumen de las adaptaciones metabólicas y cardiovasculares con entrenamiento de enduro.

Parámetro fisiológico	Reposo	Ejercicio sub-máximo	Ejercicio máximo
Volumen sistólico	I	I	I
Ritmo cardíaco	D	D	D O —
Gasto cardíaco	—	—	I
Diferencia a-vO <sub>2</sub>	—	I	I
VO <sub>2</sub>	—	—	I

Presión sanguínea sistólica	D	D	—
Presión sanguínea diastólica	—	D	D
Volumen sanguíneo	I	I	I
Densidad capilar	I	I	I
Densidad mitocondrial	I	I	I

I= incremento

D= disminución

— = no hay cambio

$VO_2$  = consumo de oxígeno

$a-vO_2 = (caO_2 - CVO_2)$

Tomado de (Bain et al, 2010)

En un estudio realizado por Paladino B et al. (2007) donde se evaluaron los efectos del entrenamiento vs. el sobreentrenamiento, se encontró que los caballos sometidos a sobreentrenamiento presentaron un incremento en el conteo de células rojas, leucocitos, una disminución en el volumen corpuscular medio y en la concentración de hemoglobina corpuscular media. Lo anterior se debe principalmente a que a pesar de que hay un conteo de células aumentado, en su mayoría estas son inmaduras por lo cual no cumplen su función adecuadamente. Esto ocurre como resultado de una alteración en la mecánica de la hematopoyesis y la falta de respuesta a la exigencia física.

## 8.6 Estado del Arte

Partiendo de la revisión bibliográfica que se ha realizado, existen estudios similares al propuesto, sin embargo no se tienen en cuenta las características de altitud, el estado de entrenamiento en algunos estudios, mientras que en otros se utilizan diferentes razas a la araba y angloárabe que se utilizaran en este estudio.

Por ejemplo en un estudio titulado “Determinación de intervalos de referencia de los parámetros hematológicos en caballos paso fino colombiano en pre y pos ejercicio en la sabana de Bogotá.” Por las doctoras Ángela Rocío Rincón González y Mónica Marcela Torres García en el 2010, realizan la medición de los valores de referencia para caballos criollos paso fino específicamente. Este estudio tiene en cuenta la altitud de la Sabana de Bogotá, sin embargo son mediciones en 2 tiempos diferentes y no tienen en cuenta el nivel de entrenamiento físico que requiere un caballo de enduro.

En otro estudio realizado en el país se determino los valores del hemoleucograma en caballos Pura Sangre Ingles (PSI), sin embargo esto se realizo en Antioquia, región del paisa que presenta diferentes condiciones geográficas y climáticas a las de la sabana de bogota (Arias et al. 2006).

“Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses” es un estudio en el cual se determinó el estrés oxidativo en caballos árabes de enduro. Es un

estudio realizado en Brasil el cual es un país tropical por lo tanto los animales se encuentran adaptados fisiológicamente a otra geografía diferente a la de la sabana de Bogota. También se tiene en cuenta los niveles de entrenamiento y los parámetros fisiológicos normales en la competencia, por los cuales algunos ejemplares no terminaron la carrera. A pesar de que este estudio se realiza en animales de la misma raza que la que se propone en este estudio, el objetivo del trabajo esta enfocado a otra temática. (Gondim et al. 2009).

Se ha determinado el efecto del trote y el galope en el eritrograma en caballos andaluces pero una vez mas las diferencias raciales son una gran diferencia, además de las diferencias geográficas ya que el estudio se realizo en Córdoba, España, razón por la cual no puede ser un punto de referencia para establecer valores hematológicos para caballos árabes y angloárabes de enduro. Este estudio solo tiene en cuenta machos reproductores (Rubio et al. 1996).

La respuesta hematológica al ejercicio ha sido estudiada en caballos cuarto de milla en pruebas de frenado en el cual se monitoreó las frecuencias cardiacas pre y post competencia. este estudio nos demuestra como se altera el hemograma pre y post ejercicio pero no tiene en cuenta la adaptación fisiológica a la altura ni comprende la raza árabe y anglo árabe. Este estudio se enfocó mas en el cambio fisiológico que genera el ejercicio en el ritmo cardiaco mas que en las variaciones hematológicas que se presentan en los ejemplares (Kästner et al. 1999)

Debido a la alta variabilidad genética que se presenta en los equinos por la selección para diferentes actividades y propósitos, se ha generado diferencias en la fisiología de los animales entre las diferentes razas. Gracias a esto es muy difícil establecer parámetros fisiológicos hemáticos únicos que abarquen todas las diferentes razas. Es por esto que es importante individualizar los estudios y enfocarlos mas hacia las diferentes actividades y diferentes razas para así tener mejores referencias a la hora de realizar un análisis para el examen clínico.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

## 9.1 Análisis Descriptivo

A continuación se muestran las medias de los tratamientos (tipos de entrenamiento) para cada una de las variables que componen el cuadro hemático.

Tabla 13. Análisis descriptivo de resultados

GRUPOTESIS		Media	Desviación estandar	N
RBC	SIN ENTRENAMIENTO	9,847	1,5656	15
	40 KM	9,727	1,4791	15
	80 KM	8,600	,9000	15
	120 KM - 160 KM	9,953	1,5496	15
	Total	9,532	1,4709	60
HTO	SIN ENTRENAMIENTO	39,973	5,2925	15
	40 KM	42,140	6,9313	15
	80 KM	40,507	4,2973	15
	120 KM - 160 KM	44,007	6,1838	15
	Total	41,657	5,8329	60
HB	SIN ENTRENAMIENTO	13,220	1,4698	15
	40 KM	14,133	2,2183	15
	80 KM	13,420	1,1791	15
	120 KM - 160 KM	14,760	2,0276	15
	Total	13,883	1,8340	60
VCM	SIN ENTRENAMIENTO	40,80	4,092	15
	40 KM	43,13	2,503	15
	80 KM	45,20	2,757	15
	120 KM - 160 KM	44,93	2,492	15
	Total	43,52	3,447	60
HCM	SIN ENTRENAMIENTO	13,487	1,2053	15
	40 KM	14,467	,8226	15
	80 KM	15,600	,8872	15
	120 KM - 160 KM	14,813	,8158	15
	Total	14,592	1,1981	60
CMHC	SIN ENTRENAMIENTO	33,173	1,5420	15
	40 KM	33,527	1,2759	15
	80 KM	34,573	1,9775	15

120 KM - 160 KM	33,027	1,2742	15
Total	33,575	1,6233	60

En la tabla 13 se quiere validar si existe un efecto significativo de los tratamientos para cada una de estas variables, situación que no se puede comprobar por simple inspección de las medias, por tanto a continuación se propone un análisis de varianza por variable para determinar si individualmente hay diferencias significativas en las medias de los tipos de entrenamiento. Posteriormente se realizó un análisis de varianza multivariado para determinar si en forma conjunta el efecto es significativo a través del vector de medias de los tipos de entrenamiento.

## 9.2 Análisis de Varianza (ANOVA)

Asumiendo que las variables son independientes, es decir ignorando una posible estructura de correlación entre las mismas se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 14: Análisis de varianza para cada una de las variables que componen el cuadro hemático. ANOVA

		<b>Suma de cuadrados</b>	<b>df</b>	<b>Media de cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
RBC	Entre grupos	17,746	3	5,915	3,014	,037
	Dentro de los grupos	109,904	56	1,963		
	Total	127,650	59			
HTO	Entre grupos	148,683	3	49,561	1,493	,226
	Dentro de los grupos	1858,624	56	33,190		
	Total	2007,307	59			
HB	Entre grupos	22,286	3	7,429	2,362	,081
	Dentro de los grupos	176,157	56	3,146		
	Total	198,443	59			
VCM	Entre grupos	185,517	3	61,839	6,718	,001
	Dentro de los grupos	515,467	56	9,205		
	Total	700,983	59			
HCM	Entre grupos	34,538	3	11,513	12,856	,000
	Dentro de los grupos	50,148	56	,896		
	Total	84,686	59			
CMHC	Entre grupos	21,915	3	7,305	3,063	,035

<i>Dentro de los grupos</i>	133,557	56	2,385		
<i>Total</i>	155,473	59			

Nivel de significancia =0,05

Con respecto a la tabla 14, la  $H_0$  se rechazará si el P-valor (Sig)  $< \alpha$  y se concluirá que hay diferencia estadísticamente significativa en el efecto medio de los tratamientos en consideración. Asumiendo  $\alpha=0.05$  se concluye que no hay diferencias significativas tanto en el nivel promedio del Hematocrito como en el nivel promedio de la Hemoglobina al considerar los distintos tipos de entrenamiento. Respecto a las demás variables se concluye que en cualquiera de los casos existen diferencias significativas en el efecto medio de los distintos tipos de entrenamiento.

### 9.3 Análisis de Varianza (MANOVA)

Los resultados obtenidos a través de cuatro estadísticos diferentes se muestran a continuación:

Tabla 15: Análisis de varianza multivariado para las variables que componen el cuadro hemático (MANOVA)

Effecto	Valor	F	Hipótesis df	Error df	Sig.	Eta cuadrada parcial
Intercepto						
Traza de Pillai	1,000	222239,935 <sup>a</sup>	6,000	51,000	,000	1,000
Lambda Wilks	,000	222239,935 <sup>a</sup>	6,000	51,000	,000	1,000
Traza de Hotelling	26145,875	222239,935 <sup>a</sup>	6,000	51,000	,000	1,000
Lambda de Roy	26145,875	222239,935 <sup>a</sup>	6,000	51,000	,000	1,000
GRUPOTESIS						
Traza de Pillai	,746	2,924	18,000	159,000	,000	,249
Lambda Wilks	,400	3,074	18,000	144,735	,000	,263
Traza de Hotelling	1,150	3,174	18,000	149,000	,000	,277
Lambda de Roy	,734	6,482 <sup>b</sup>	6,000	53,000	,000	,423

## 9.4 Comparaciones múltiples respecto al grupo control

Haciendo uso de la prueba de comparación de Dunnett (1955) se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 16 Comparaciones múltiples con grupo control

Dunnett t (<control)<sup>a</sup>

Variable dependiente	(I) GRUPOTESIS	(J) GRUPOTESIS	Diferencia de medias (I-J)	Error Std.	Sig.	99% intervalo de confianza
						Limite superior
RBC	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	-.120	.5115	.658	1.303
	80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	-1.247	.5115	.024	.176
	120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.107	.5115	.819	1.530
HTO	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	2.167	2.1036	.968	8.019
	80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.533	2.1036	.832	6.385
	120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	4.033	2.1036	.998	9.885
HB	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.913	.6476	.988	2.715
	80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.200	.6476	.848	2.002
	120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	1.540	.6476	1.000	3.342
VCM	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	2.33	1.108	.999	5.42
	80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	4.40	1.108	1.000	7.48
	120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	4.13	1.108	1.000	7.22
HCM	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.980	.3455	1.000	1.941
	80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	2.113	.3455	1.000	3.075
	120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	1.327	.3455	1.000	2.288
CMHC	40 KM	SIN ENTRENAMIENTO	.353	.5639	.918	1.922

80 KM	SIN ENTRENAMIENTO	1.400	.5639	1.000	2.969
120 KM - 160 KM	SIN ENTRENAMIENTO	-.147	.5639	.647	1.422

El error cuadrático medio (Error) = 2.385.

a. la prueba Dunnett t-test trata un grupo como control y compara el resto contra ese.

## 9.5 Comparación múltiples entre los diferentes grupos de tratamiento.

Tabla 17 Comparaciones múltiples entre grupos de tratamiento

Dunnett t (<control)<sup>a</sup>

Variable dependiente (I)	GRUPOTESIS (J)	GRUPOTESIS	Diferencia de medias (I-J)	Error Std.	Sig.	99% intervalo de confianza
						Limite superior
RBC	80 KM	40 KM	-1,127	,4899	,024	,183
	120 KM - 160 KM	40 KM	,227	,4899	,825	1,537
HTO	80 KM	40 KM	-1,633	2,1577	,348	4,136
	120 KM - 160 KM	40 KM	1,867	2,1577	,915	7,636
HB	80 KM	40 KM	-,713	,6806	,242	1,107
	120 KM - 160 KM	40 KM	,627	,6806	,924	2,447
VCM	80 KM	40 KM	2,07	,945	,997	4,59
	120 KM - 160 KM	40 KM	1,80	,945	,993	4,33
HCM	80 KM	40 KM	1,133	,3076	1,000	1,956
	120 KM - 160 KM	40 KM	,347	,3076	,951	1,169
CMHC	80 KM	40 KM	1,047	,5642	,992	2,555
	120 KM - 160 KM	40 KM	-,500	,5642	,299	1,009

El error cuadrático medio (Error) = 2.387.

a. la prueba Dunnett t-test trata un grupo como control y compara el resto el contra ese.

Tabla 18 Comparaciones múltiples entre dos grupos de tratamiento

Dunnett t (<control)<sup>a</sup>



Variable (I) dependiente	GRUPOTESIS (J) GRUPOTESIS		Diferencia de medias (I-J)	Error Std.	Sig.	99% intervalo de confianza
						Limite superior
RBC	80 KM	120 KM - 160 KM	-1,353*	,4899	,008	-,043
HTO	80 KM	120 KM - 160 KM	-3,500	2,1577	,097	2,269
HB	80 KM	120 KM - 160 KM	-1,340	,6806	,050	,480
VCM	80 KM	120 KM - 160 KM	,27	,945	,770	2,79
HCM	80 KM	120 KM - 160 KM	,787	,3076	,999	1,609
CMHC	80 KM	120 KM - 160 KM	1,547	,5642	,999	3,055

El error cuadrático medio (Error) = 2.387.

a. la prueba Dunnett t-test trata un grupo como control y compara el resto contra ese.

\*. La diferencia de medias es significativo a un nivel de 0,01

Tabla 19: comparacion entre grupos de tratamiento

	Ho: $\mu_{40 \text{ km}} > \mu_{80 \text{ km}}$	Pvalor	Ho: $\mu_{120 \text{ km}-160 \text{ km}} > \mu_{80 \text{ km}}$	Pvalor	Ho: $\mu_{40 \text{ km}} > \mu_{120-160 \text{ km}}$	Pvalor
RBC	No rechaza	0,024	Rechaza	0,008	No rechaza	0,825
HTO	No rechaza	0,348	No rechaza	0,097	No rechaza	0,915
HB	No rechaza	0,242	No rechaza	0,050	No rechaza	0,924
VCM	No rechaza	0,997	No rechaza	0,770	No rechaza	0,993
HCM	No rechaza	1,000	No rechaza	0,999	No rechaza	0,951
CMHC	No rechaza	0,992	No rechaza	0,999	No rechaza	0,299

Nivel de significancia =0,01

## 9.6 Discusión de resultados

Con respecto a la tabla 14, la Ho se rechazará si el P-valor (Sig)  $< \alpha$  y se concluirá que hay diferencia estadísticamente significativa en el efecto medio de los tratamientos en consideración. Asumiendo  $\alpha=0.05$  se concluye que no hay diferencias significativas tanto en el nivel promedio del Hematocrito como en el nivel promedio de la Hemoglobina al considerar los distintos tipos de entrenamiento. Respecto a las demás variables se concluye que en cualquiera de los casos existen diferencias significativas en el efecto medio de los distintos tipos de entrenamiento.

En la tabla 15, en cualquiera de los casos el P-valor (Sig)  $< 0.05$ , y en ese caso se puede afirmar que el valor promedio no es el mismo para los 4 tipos de entrenamiento evaluados, esto es, existen diferencias significativas que permiten rechazar la hipótesis de igualdad de vectores de medias en los 4 tipos de entrenamiento.

Se puede observar claramente en la tabla 16 que en cualquiera de los casos el P-valor (Sig)  $> 0.01$ ). Esto permite aceptar la hipótesis nula en todos los casos planteados para la prueba estadística, es decir que los valores de RBC, HTO, HB, VCM, HCM y CMHC para todos los grupos experimentales son inferiores con respecto al grupo control. Esto confirma lo planteado por Bonilla (2005) donde habla de una disminución de RBC, HTO y HB en la respuesta crónica al ejercicio. Sin embargo, aunque los valores si son significativamente inferiores a nivel estadístico, no se puede llegar a hablar de una anemia o una alteración

fisiológica ya que la mayoría de los valores se encuentran entre los rangos normales para cada variable.

Se puede determinar que el tamaño del eritrocito es menor en animales entrenados (sin importar el grado de entrenamiento) que en animales no entrenados, ya que al aceptar la hipótesis nula de la tabla 16, los valores de VCM en los grupos de tratamiento son inferiores a los del grupo control. Esto conlleva a que con un menor tamaño se presente una menor concentración de hemoglobina en los glóbulos rojos ya que la división celular se detiene cuando se llega a una concentración crítica de hemoglobina intracelular. Teniendo en cuenta los resultados que se obtuvieron en este trabajo, se puede decir que la concentración crítica de hemoglobina intracelular es menor, y esto se debe a la eficiencia en el transporte de oxígeno. La HCM está influenciada directamente por el VCM, por ejemplo eritrocitos más pequeños contienen menos hemoglobina, por tanto tienen una HCM disminuida (Duncan et al, 2005).

Para que un eritrocito sea más eficiente transportando oxígeno se requieren algunas condiciones especiales como; la disminución de una proteína llamada 2,3 difosfoglicerato, que genera una menor afinidad de la hemoglobina hacia el oxígeno dentro del glóbulo rojo, permitiendo así una liberación más fácil y rápida del oxígeno en los diferentes tejidos del cuerpo (Meyer et al, 1998). Otra característica es el aumento del volumen plasmático creando una hemodilución y permitiendo un mejor flujo hacia los diferentes tejidos (Rivera-Brown A. et al, 2012). En este caso en especial no se miden esas variables, sin embargo teniendo en cuenta el nivel de exigencia física y las características del cuadro hemático mencionadas anteriormente, se puede tener una idea de cuán eficiente es este transporte de oxígeno dadas las características de los atletas.

En la prueba Dunnett de comparación de medias entre grupos, se puede determinar que no se rechaza la hipótesis nula de ninguna de las variables a excepción de RBC ( $H_0: \mu_{120-160 \text{ km}} > \mu_{80 \text{ km}}$ ), lo cual indica que:

Para la primera prueba, se acepta que todas las medias de las diferentes variables tenidas en cuenta del grupo de 80km son inferiores a los valores obtenidos en el grupo de 40kms. Esto confirma lo planteado por Bonilla (2005) donde hace referencia a los cambios fisiológicos al ejercicio, y además confirma que a mayor intensidad y mayor grado de entrenamiento, los cambios fisiológicos adaptativos a cierto grado de exigencia en el transporte de oxígeno serán más marcados.

Para el grupo de 80km vs. 120-160km se puede ver que los valores de RBC son inferiores en el grupo de 120-160 km ya que se rechaza la hipótesis ( $H_0: \mu_{120-160 \text{ km}} > \mu_{80 \text{ km}}$ ), pero para el resto de variables los valores son inferiores para el grupo de 80km ya que no se rechaza la hipótesis mencionada anteriormente.

Con respecto a los grupos de 40km vs. 120-160km no se rechaza la hipótesis ( $H_0: \mu_{40 \text{ km}} > \mu_{120-160 \text{ km}}$ ), lo que nos determina que los valores del grupo de 120-160 son menores en todas las variables del cuadro hemático en estudio que las de 40km.

Según los resultados mencionados anteriormente se determina que si existe diferencia en cuanto a los cambios fisiológicos al ejercicio con respecto a la línea roja, pero se puede hablar de cierto nivel de entrenamiento óptimo ya que, los valores encontrados en los grupos de 80kms y 120-160km determinan que puede existir cierto tipo de sobreentrenamiento, es decir los animales llegan a un punto límite de eficiencia, y después de ahí la exigencia física es tan grande que necesitan suplir ciertas necesidades de oxigenación y por ende hay una variación leve en los valores de la línea roja. Se mantiene la disminución del RBC, pero se aumenta en algún grado el hematocrito, lo que se puede dar por el alto grado de deshidratación que sufre el animal en las pruebas de 120-160km. Se encontraron valores de HB más altos en la categoría de 120-160km que en la de 80km, lo que se puede relacionar a una mayor necesidad de oxigenación. Aunque se presenta este aumento en la HB se puede ver que no es tan marcado como en el grupo control, o

inclusive el grupo de 40km, lo que hace pensar que aunque se presenta la eficiencia en el transporte de oxígeno, hay un sobre-entrenamiento el cual el animal debe compensar para llegar a un óptimo rendimiento. Una vez más, es necesario hacer mediciones de 2,3 difosfoglicerato para determinar la afinidad de la hemoglobina al oxígeno y así poder relacionar mejor el nivel de eficiencia en la oxigenación de tejidos.

Es importante tener en cuenta que en equinos, la medición de este cuadro hemático se puede ver alterada por la contracción esplénica, el cual provee a la circulación de grandes cantidades de eritrocitos en caso de una alta demanda física y en estado de estrés, por lo tanto estos hallazgos son muy importantes para establecer ciertos parámetros fisiológicos de la línea roja en caballos de alto rendimiento, en especial de caballos árabes y anglo-árabes, entrenados para pruebas de resistencia. En el momento de analizar un cuadro hemático de algún equino con las características raciales y de entrenamiento mencionadas anteriormente, es de vital importancia tener en cuenta las posibles variaciones de los valores con respecto a ciertos parámetros previamente establecidos en la literatura, los cuales fueron mencionados anteriormente. Aunque la mayoría de las variables del cuadro hemático se encuentran entre los rangos normales de la raza, estadísticamente hay una diferencia significativa con respecto a los valores de caballos no entrenados.

Se debe tener en cuenta que durante la recolección de la información y las muestras, es difícil controlar tanto los tiempos de entrenamiento, así como las rutinas y la intensidad del mismo, ya que cada criadero y cada entrenador tienen su propia rutina de entrenamiento lo que genera unas co-variables no controladas. Es decir si algún caballo lleva varios años entrenando para una prueba de 80 km. tiene una adaptación diferente a un caballo que esta empezando a entrenar para la misma prueba. En los diferentes criaderos no se llevan registros de las horas de entrenamiento de cada caballo, sino que cada montador trabaja los caballos según el tiempo que tiene y sabe que a cada animal le corresponde un número de entrenamientos semanales pero sin registros exactos. Es por esto que algunos resultados se pueden ver afectados por algunas co-variables que no se controlan durante el proyecto. Por ejemplo en cuanto al sexo, Rincón A. et al. (2010) reportan que en caballos PSI, los valores eritrocitarios son mayores en hembras, mientras que los machos tienen mayor hemoglobina dentro del eritrocito, lo que puede afectar en cierto modo los resultados, ya que la distribución de machos y hembras no fue homogénea en los diferentes grupos debido a la dificultad de conseguir animales por el bajo número de ejemplares que se encuentran en Colombia. Otra co-variable que no se pudo controlar del todo fue la edad, ya que por cuestiones de el bajo número de ejemplares el rango que se manejó fue muy amplio. Esta co-variable puede afectar los resultados ya que los valores de eritrocitos, concentración de hemoglobina y hematocrito disminuyen progresivamente a mayor edad. (Rincón et al. 2010)

Además de esto es bien sabido que la alimentación tiene un efecto importante en la composición de la línea roja, ya que los niveles de hierro, vitamina B12 y aminoácidos determinan la capacidad de eritropoyesis, junto con otros factores internos (Meyer D. et al 1998). Las variaciones en la alimentación debido a que provienen de diferentes criaderos es un factor importante a tener en cuenta en la obtención de los resultados que aunque no es fácilmente medible si puede llegar a afectar en cierto grado los valores de la línea roja.

## 10. CONCLUSIONES

Al intentar determinar si existen efectos significativos en las medias de los tratamientos de cada una de las variables que componen el cuadro hemático, se encontró mediante análisis de varianzas multivariados, que si existen diferencias significativas entre los vectores de medias de los diferentes tratamientos incluyendo el grupo control en los valores de RBC,

HTO, HB, VCM, HCM y CMHC, entre equinos árabes de enduro que están adaptados a ciertas condiciones fisiológicas de entrenamiento, vs. equinos que no están adaptados a ciertas rutinas de entrenamiento, todos en a una altitud de aproximadamente 2600 m.s.n.m. Se encontraron valores inferiores en el cuadro hemático en equinos entrenados para pruebas de enduro de 40, 80 y 120-160 km vs. equinos no entrenados. Esto determina la eficiencia en la oxigenación de los diferentes tejidos y órganos del cuerpo para estos atletas, como se ha demostrado en humanos.

En cuanto a las diferencias entre grupos de entrenamiento, se puede decir el grupo de 80km es el que presenta valores mas bajos en cuanto a las diferentes variables de la línea roja, y por ende se puede plantear que fisiológicamente son los que están mejores adaptados a la oxigenación de tejidos al momento de algún tipo de exigencia física. En cuanto al grupo de 120-160 km se puede determinar que dado el alto grado de exigencia, el equino debe responder y lo que hace es aumentar la hemoglobina levemente y así supe las necesidades de oxigenación, pero no se presenta un aumento en el conteo de glóbulos rojos que es lo que sucede cuando no existe adaptación fisiológica al ejercicio. Para el grupo de 40km se encuentra cierta adaptación al ejercicio ya que los valores son inferiores con respecto al grupo sin entrenamiento, pero esta adaptación no es tan marcada como en caballos que ya llevan mas tiempo entrenando para pruebas de 80km y 120-160 km.

Es importante tener en cuenta que existen muchas otras co-variables, como sexo, edad, alimentación, tiempo de entrenamiento, tiempo de reposo, manejo etc., que determinan la eficiencia de oxigenación de órganos y tejidos, las cuales serian de gran interés para realizar una investigación controlando estas co-variables y así complementar este proyecto. Como es bien sabido, la adaptación fisiológica depende de muchos factores los cuales que en este caso no se tuvieron en cuenta. La medición de 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) como proyecto investigativo a futuro sería de gran interés para complementar este trabajo ya que la relación de este con la concentración de la hemoglobina nos da una mejor aproximación a la eficiencia en el transporte de oxígeno y por ende mejores resultados en cuanto a la adaptación fisiológica al ejercicio en altura. Los animales con concentraciones elevadas de 2,3 DPG, como los perros y los caballos, tienen el potencial de alterar la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, para cumplir las demandas metabólicas (Meyer et al, 1998). La concentración de dicha molécula desenvuelve un rol importante en la dinámica de la afinidad del oxígeno por la hemoglobina, a mayor concentración de la misma favorece un desplazamiento de la curva hacia la derecha lo cual se traduce en una menor afinidad del oxígeno por la hemoglobina (Bunn, 1971), esto favorece la liberación de oxígeno hacia los tejidos, lo que esta directamente relacionado con la adaptación fisiológica al ejercicio. Debido a lo anteriormente mencionado un estudio complementario de dicho tema seria de gran valor para lograr un mayor entendimiento de esta temática.

## 11. Bibliografía

1. Aguilar, L. (2005). *Entender, Educar y Cuidar a tu Caballo*. Madrid: LIBSA.
2. Anand, I. S., Harris, E., Ferrari, R., Pearce, P., & Harris, P. (1986). *Pulmonary heamodinamics of the yak, cattle and crossbreeds at high altitude*. Thorax , 606 - 700.

3. Arabian Horse A
4. ssociation. (1996). *Arabian Horse Association*. Revisado en Enero 24, 2014, from [http://www.arabianhorses.org/registration/reg\\_rules.asp](http://www.arabianhorses.org/registration/reg_rules.asp)
5. Art, T., & Lekeux, P. (2005). *Exercise-induced physiological adjustments to stressful conditions in sport horses*. *Livestock Production Science* , 101 - 111.
6. Arias M.P., Naranjo M.P. y Restrepo A.E. (2006), *Comparacion de los valores del hemoleucograma según la edad y el sexo en caballos pura sangre ingles del hipodromo de Los Comuneros de Gurane, Antioquia*. Colombia, Revista CES, Medicina Veterinaria y zootecnia, Volumen 1 No. 1 Enero - Junio.
7. Bain F., Elliott J., Blissitt K., Evans D., Bowen M., Fogerty U., Bright J.M., Foote A., Cox A., Van Loon G., Durando M., Hallowell G. King J., Reef B., Marr C. Reimer J., Milne E. Robertson S., Mogg T., Sage A., Seco O., Navas de Solis C. Thomas W., Pattenson M., Underwood C., Piercy R., y Young L. (2010), *Cardiology of the horse: Cardias responses to exersise and training*. Editorial Saunders Elsevier
8. Bligh, J. (1976). *introduction to aclimatory adaptation*.
9. In J. Bligh, J. L. Claudaley Thompson, & A. J. Macdonald, *Environmental fisiology of animals* (pp. 219 - 229). New York: Wiley.
10. Bligh, J., & Johnson, K. G. (1978). *glossary of terms for thermal fisiology*. *journal of applied physiology* , 941 - 961.
11. Bonilla, J. (2005) *Respuesta hematológica al ejercicio*. *Revista de Ciencias de la Salud*. Bogotá (Colombia) 3 (2): 206-216.
12. Bock, W. J. (1959). *Preadaptation and multiple evolutionary pathways*. *Evolution* 13 , 194 - 211.
13. Bouverot, P. (1985). *Adaptation to altitude hypoxia in vertebrates*. Berlin: Springer-Verlag.
14. Bouverot, P., & Bureau, M. (1975). *Ventilatory aclimatation and acid base balance in carotid chemodenarvated dogs at 3550 m*. *Journal of Physiology* , 17 - 23.
15. Bunn, H. F. (1971). *Differences in the interaction of 2, 3-diphosphoglycerate with certain mammalian hemoglobins*. *Science*, 172(3987), 1049-1050.
16. Cordero L. Y Salas J. (2000), *Enfermedades de los animales domésticos*. Costa Rica, EUNED
17. Cosio, G., & Yataco, A. (1968). *Valores de hemoglobina en relacion con la altura sobre el nivel del mar*. *Salud Ocupacional* , 5 - 17.
18. Cowell, R.L. y Tyler, R.D. (2002). *Diagnostic cytology and hematology of the horse*. United States of America: Mosby
19. Duncan., Latimer K., Mahaffey E. y Prasse K. (2005), *Patología Clínica Veterinaria*, Barcelona España, Editorial Multimédica Ediciones Veterinarias.
20. Evans, J., Borton, A., Hintz, H., Dale, L. (1979). *El Caballo*. Zaragoza: ACRIBIA.
21. Gómez L.G. y Sáez S. (2011), *Sistema de mejora continua de la calidad en el laboratorio*, Valencia, España, PUV
22. Gondim F.J., Zoppi C.C. Silveira L., Pereira-da-Silva L. Y Vaz de Macedo D. (2009) *Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses*, *Journal of equine veterinary science*, volumen 29 No 4
23. Hawkey, C. M., & Dennet, T. V. (1989). *Atlas de hematología veterinaria comparada*. Barcelona: Grass ediciones.
24. Kästner S.B.R., Weishaupt, M.A., Fiege, K. y Auer, J.A., (1999), *Heart rate and hematological responses of quarter horses to a reining competition*. *Journal of equine veterinary science*, volumen 19, No. 2.
25. Koneman E.W. y Allen S., (2008), *Diagnostico Microbiológico: texto y atlas en color*, Madrid, España, Panamericana.
26. Harvey J. (2011), *Veterinary hematology, a diagnostic guide and color atlas*. Gainesville, Florida, United States, Editorial Saunders.
27. Hoyos-Osorio, P. A. (2003) *Determinación y análisis de hematocrito, hemoglobina y pH sanguíneo pre y post ejercicio en equinos de salto en Bogotá, Colombia*. Tesis de pregrado. Universidad de La Salle.



28. Instituto Colombiano Agustin Codazzi. (2014, 1 17). ICAG. Retrieved 1 17, 2014, from Instituto Colombiano Agustin Codazzi: <http://www.igac.gov.co/igac>
29. Krogh, A. (1919). *The number and distribution of capillaries in muscles with calculations of the oxygen pressure head necessary to supply the tissue*. Journal of Physiology, 409 - 415.
30. Latimer, K., Mahaffey, E., & Prassek, K. (2005). *patologia clinica veterinaria* (Vol. 4ta edicion). España.
31. Lording, P.M. (2008). *Erythrocytes*. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, Volumen 24, Numero 2, Pagina 225–237.
32. Meyer D. and Harvey J, (1998), *Veterinary Laboratory Medicine*, United States of America, W.B Saunders Company
33. Monge, C. y León-Velarde, F. (1991). *Physiological adaptation to high altitude: Oxygen transport in mammals and birds*. Physiological Reviews, 71, 4, 1135 - 1172.
34. Monge, C. y León-Velarde, F. (2003), *El reto fisiológico de vivir en los Andes*, Perú, IFEA.
35. Orozco, C. (2007) , *respostas hematológicas e bioquímicas de equinos da raça pura sangue árabe em testes de esforço progressivo realizados em esteira rolante durante a fase de treinamento e em prova de enduro a campo*. Brasil
36. Paladino B., Rubino G., centoducati P. y Petazzi F., (2007), *Training versus overtraining: Evaluation of two protocols*. Italy, Journal of Equine Veterinary Science, editorial Elsevier.
37. Piazza, T., Lauzon, A. M., & Mortola, J. P. (1988). *Time course of adaptation to hypoxia in newborn rats*. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 152 - 158.
38. Ravazzi, G. (1994). *El Gran Libro Ilustrado de los Caballos*. Barcelona: De Vecchi, S.A.
39. Reagan, W.J., Sanders, T.G. y DeNicofa, D.B. (1999). *Hematológica veterinaria, atlas de especies domesticas comunes*. España: Ediciones S
40. Rincon, A. y Torres M., (2010), *Determinación de intervalos de referencia de los parámetros hematológicos en caballos paso fino colombiano en pre y pos ejercicio en la sabana de Bogotá*. Bogota, Colombia. Universidad de la Salle.
41. Rivera-Brown A. y Frontera W. (2012) *Principles of exercise physiology: response to acute exercise and long-term adaptations to training*. USA, American Academy of physical medicine and rehabilitation, Vol 4 797-804
42. Rubio M.D., Escribano B.M., Oropesa A., Tovar P., Castejón F.M. y Vivo R., (1996), *Influence of trotting and galloping exercises on erythrogram of andalusian horse stallions*. Cordoba, España, Journal of equine veterinary science, volumen 16 No. 6
43. Schalm O.W, Jain N.C, Carroll E.J. (1975) *Hematología Veterinaria*. Philadelphia. Hemisferio sur S.A.
44. Tyler Mc Gowan CM, Golland LC, Evans DL, Hodgson DR, Rose JR. (1999) *Haematological and biochemical responses to training and overtraining*. Equine Veterinary Journal. Jul;30:621 -5.
45. Voigt, G.L. y Swist, S.L. (2011). *Hematology techniques & concepts for veterinary technicians*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
46. Weisser, M. G., Kohn, C., & Vachon, A. (1983, Jun 20). *Erythrocyte volume distribution, analysis and hematological changes in two horses with immune mediated hemolytic anemia*. Veterinary Pathology, 424 - 433.
47. West, J. B. (1982). *Respiratory and circulatory control at high altitude*. Journal of experimental Biology, 147 - 157.