

1

JOSE LLORED A CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-144140- -00009-0000

Fecha: 2013-03-11 16:33:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 9

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: P1.-**INCYTE CORPORATION**.-Solicitud de Patente de Invención para
"**METABOLITOS DEL INHIBIDOR DE JANUS QUINASA (R)-3-(4-(7H-**
PIRROLO[2,3-d]PIRIMIDIN-4-IL)-1H-PIRAZOL-1-IL)-3-
CICLOPENTILPROPANONITRILO".-Clase **C07D 487/04**.-Expediente número
09-144.140.-

Yo, **ALICIA LLORED A RICAURTE**, mayor, vecina de esta ciudad, identificada con la cédula de ciudadanía número 39.690.713 de Usaquén, Representante Legal en Bogotá para todos los asuntos relacionados con la Propiedad Industrial de la sociedad **INCYTE CORPORATION**, organizada y existente de conformidad con las leyes de Estados Unidos de América, domiciliada en Wilmington, Estado de Delaware, Estados Unidos de América, atentamente manifiesto a usted que interpongo **Recurso de Reposición** contra la Resolución número **1770** dictada por el señor Superintendente de Industria y Comercio el 28 de Enero de 2013 y notificada por Edicto fijado el 5 de Febrero de 2013, por medio de la cual se niega el privilegio de patente solicitado para la invención contenida en el expediente de la referencia.

I. FUNDAMENTOS DE DERECHO

Como fundamento de mi recurso me permito manifestar ante ese Despacho que el contenido de la Resolución número 1770 evidencia que durante el examen técnico realizado a la solicitud en cuestión de ninguna manera se consideró el alcance, objeto e importancia de la invención denegada en su verdadera dimensión, esto es, no se consideró el valioso aporte técnico que representan para el arte en cuestión los metabolitos que son revelados en la solicitud denegada.

En efecto, a pesar de los argumentos proporcionados por el solicitante en respuesta al Concepto Técnico número 14156 de 14 de Agosto de 2012, en la Resolución impugnada

este Despacho mantiene las objeciones frente a la invención, argumentando básicamente que:

"La reivindicación 1 (Fl: 101) que se refiere a los compuestos // no es una invención porque se trata de metabolitos aislados de muestras de orina de rata o perro (ver la descripción, Pág. 6, Fl. 29), por lo tanto, son compuestos biológicos aislados de un ser vivo que están excluidos de patentabilidad por lo que no se consideran invenciones";

Así como también que:

"De igual modo, las reivindicaciones 2 y 3 que se relacionan con una composición que comprenden uno de los compuestos de la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable, tampoco se consideran invenciones puesto que la característica esencial es el principio activo que es un compuesto aislado de un ser vivo".

Por consiguiente, a continuación me permito demostrar ante ese Despacho que la presente invención de ninguna manera cae dentro de lo que no se considera como invención de acuerdo con lo establecido en Artículo 15 de la Decisión 486 de 2000, toda vez que los compuestos revelados por el solicitante de ninguna manera corresponden a material que exista como tal en la naturaleza.

1) Características técnicas de la invención denegada

En conexión con el punto anterior, inicialmente me permito realizar un resumen de las principales características de la materia revelada en la solicitud de patente denegada, con el fin de reiterar ante ese Despacho el verdadero objeto y la importancia de la invención en estudio:

La presente solicitud de patente está dirigida a proteger los siguientes tres compuestos químicos específicos:

-3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(3-hidrox ciclopentil)propanonitrilo,

-3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(2-hidrox ciclopentil)propanonitrilo, y,

-3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(3-oxociclopentil)propanonitrilo

los cuales corresponden a metabolitos derivados del compuesto (R)-3-(4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1h-pirazol-1-il)-3-ciclopentilpropanonitrilo, y donde tales metabolitos son sintetizados en el laboratorio mediante las vías de síntesis, los precursores y las condiciones de reacción establecidos de manera clara por el solicitante en las páginas 8 a 11 y 27 a 35 de la descripción.

Adicionalmente, considero de gran importancia mencionar que, tal y como se establece en la descripción de la solicitud, como pasó previo a la síntesis en el laboratorio de dichos metabolitos, su estructura química fue definida luego de llevar a cabo un proceso que incluyó la administración a un organismo vivo (en este caso perros y ratones) del compuesto químico precursor, esto es, el compuesto (R)-3-(4-(7H-pirrollo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1h-pirazol-1-il)-3-ciclopentilpropanonitrilo, y la posterior caracterización estructural de los compuestos químicos excretados por tales organismos a través de la orina.

Finalmente, considero relevante destacar que los novedosos compuestos químicos revelados en la solicitud de patente en cuestión han demostrado presentar una actividad efectiva como moduladores específicos de la actividad de las proteínas Janus quinasa JAK1, JAK2 y JAK3, actividad que es superior a aquella mostrada por el compuesto químico precursor empleado, tal y como se revela en las páginas 36 a 38 de la descripción.

2) **Respuesta específica a los argumentos en la Resolución impugnada**

Ahora bien, de conformidad con los anteriores argumentos me permito señalar ante ese Despacho que las afirmaciones presentadas en la Resolución impugnada carecen de toda relevancia para sustentar que la materia técnica revelada en la presente invención cae dentro de lo que no se considera una invención, tal como me permito destacar a continuación:

➤ En la Resolución número 1770 de la SIC se afirma que: *"...vale la pena aclarar que los metabolitos son sustancias que quedan después del metabolismo de un fármaco por parte del ser vivo, en este caso, rata y perro, por lo que los metabolitos presentes en la orina analizada en la presente solicitud sí corresponden a material biológico existente en la naturaleza"*

Con respecto a la anterior afirmación resulta relevante mencionar que el señor Examinador la sustenta en las enseñanzas del siguiente artículo científico:

R. García-Castillo y compañeros, "Metabolitos en suero sanguíneo de cerdos alimentados con dietas suplementadas con cromo-L-metionina", Agronomía mesoamericana 17(2): 161-165, 2006,

el cual corresponde a una publicación de los resultados experimentales obtenidos por los autores luego de estudiar el efecto de adicionar cromo-L-metionina en la dieta de animales (específicamente cerdos), a partir de lo cual se encontró que el cromo incrementa el metabolismo de la glucosa y disminuye el de colesterol, hecho que sugiere que puede haber energía disponible para la síntesis de proteínas y que por ende estimule el crecimiento de los animales (*El anexo I del presente recurso corresponde a una copia completa de dicho artículo científico*).

Ahora bien, teniendo en cuenta lo anteriormente señalado y a partir de una lectura y análisis cuidadosos de las enseñanzas del artículo científico mencionado por ese Despacho como pie de página de la página 2 de la Resolución aquí impugnada, es absolutamente claro que tal anterioridad de ninguna manera se relaciona con el objeto de la solicitud de patente en cuestión, así como tampoco con el problema técnico resuelto, toda vez que mientras en la presente invención se revelan compuestos químicos específicos que corresponden a metabolitos del inhibidor de Janus quinasa (R)-3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-ciclopentilpropanonitrilo, y los cuales son obtenidos mediante síntesis en un laboratorio luego de caracterizar su estructura química a partir de los productos del metabolismo del compuesto (R)-3-(4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-ciclopentilpropanonitrilo en los organismos de perros y ratones, el documento del arte previo en cuestión simplemente hace referencia a un estudio en el que se encontró que la adición de cromo (Cr) en la dieta de los marranos favorece el metabolismo de la glucosa y por ende estimula el crecimiento de los animales.

Visto lo anterior, de la manera más atenta me permito solicitar a ese Despacho la reconsideración de las objeciones técnicas realizadas a éste respecto, ya que el artículo citado no tiene ningún tipo de relación con la invención en cuestión.

➤ De otro lado, en la Resolución impugnada se afirma que: *"...por el hecho de atribuirse una actividad farmacológica o terapéutica a metabolitos aislados, no significa que pierdan su característica de ser material biológico existente en la naturaleza"*

En respuesta a lo anterior me permito destacar una vez más ante ese Despacho las siguientes consideraciones técnicas:

a) La solicitud de patente en cuestión de ninguna manera se encuentra dirigida a proteger material biológico existente en la naturaleza, toda vez que los tres compuestos químicos específicamente revelados en la reivindicación 1 de la presente invención no pueden ser encontrados y aislados de un organismo vivo sin que previamente haya habido una administración expresa a dicho organismo del compuesto químico precursor.

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

En efecto, los compuestos revelados en la reivindicación 1 de la presente invención, esto es, los compuestos:

-3-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(3-hidroxyciclopentil)propanonitrilo,

-3-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(2-hidroxyciclopentil)propanonitrilo, y,

-3-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il)-3-(3-oxociclopentil)propanonitrilo

son metabolitos derivados del compuesto (R)-3-(4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1h-pirazol-1-il)-3-ciclopentilpropanonitrilo, el cual no puede ser producido o sintetizado de manera natural por algún organismo vivo, y por ende el sistema metabólico de cualquiera de tales organismos vivos (entre otros los perros y los ratones) podría estar en capacidad de generar dichos metabolitos únicamente si el compuesto químico del cual se derivan ha sido administrado previamente.

En efecto, de manera general puede afirmarse que el sistema metabólico de los organismos vivos tiene la capacidad de convertir los compuestos químicos extraños que ingresen a dicho organismo en derivados fácilmente eliminables a través de la orina o la bilis, razón por la cual es evidente que tales derivados no hacen parte de la naturaleza, esto es, no se encuentran per se en la naturaleza, y únicamente son el resultado de la administración previa a un organismo vivo del compuesto precursor.

b) Ahora bien, tal y como también se ha señalado previamente en el presente memorial, los tres compuestos químicos específicos mencionados en la reivindicación 1 de la solicitud de patente en cuestión son sintetizados en el laboratorio mediante rutas de síntesis y compuestos precursores plenamente divulgados por el solicitante en la descripción.

c) Finalmente, me permito manifestar entonces que los compuestos químicos revelados por el solicitante de ninguna manera corresponden a material biológico existente en la naturaleza, y por lo tanto corresponde a materia plenamente patentable a la luz de lo establecido en la Decisión 486 de 2000.

II. CONCLUSIONES

Con base en los argumentos técnicos mostrados previamente, me permito manifestar ante ese Despacho que la materia revelada en la solicitud de patente en cuestión de ninguna manera cae dentro de lo que no se considera una invención de conformidad con lo establecido en el Artículo 15 de la Decisión 486 de 2000.

En efecto, a lo largo del presente escrito se ha demostrado que los tres compuestos químicos revelados de manera específica en la reivindicación 1 de la solicitud de patente en **cuestión de ninguna manera se encuentran en la naturaleza, sino que son el resultado de un desarrollo sintético en el laboratorio luego de que su estructura química fue elucidada como consecuencia de un proceso que incluyó la administración del compuesto químico precursor a organismos vivos** y el posterior análisis de los compuestos excretados por tales organismos a través de la orina.

III. PETICIÓN

En vista de todo lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las argumentaciones presentadas y proceder a revocar la Resolución Número **1770**, con el fin de que se conceda el privilegio de patente a la presente invención.

IV. ANEXOS

Anexo al presente recurso me permito presentar una copia completa del artículo científico:

R. García-Castillo y compañeros, "Metabolitos en suero sanguíneo de cerdos alimentados con dietas suplementadas con cromo-L-metionina", Agronomía mesoamericana 17(2): 161-165, 2006.

V. PODER

En este punto me permito mencionar ante ese Despacho que el documento que acredita mi calidad de Representante Legal en Bogotá para asuntos relativos a la Propiedad Industrial de la sociedad peticionaria, fue presentado junto con la Solicitud de patente radicada ante ese Despacho el 16 de Diciembre de 2009.

VI. DOMICILIO

Mi dirección es Calle 72 No. 5-83, Piso 6º, Bogotá D.C.

Del Señor Superintendente,



ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. 53.215

Dirección para Notificaciones: **notificacionespatentes@lloredacamacho.com**

METABOLITOS EN SUERO SANGUÍNEO DE CERDOS ALIMENTADOS CON DIETAS SUPLEMENTADAS CON CROMO-L-METIONINA¹

Ramón García-Castillo², Jhonisel Velásquez-Gumecindo², Regino Morones-Reza²,
Jorge Ramsy Kawas-Garza³, Jaime Salinas-Chavira⁴

RESUMEN

Metabolitos en suero sanguíneo de cerdos alimentados con dietas suplementadas con Cromo-L-metionina. Un total de 48 cerdos (*Sus scrofa domesticus*; 24 machos castrados y 24 hembras) cruzados (Yorkshire, Hampshire, Duroc y Landrace) de 3,5 a 4,0 meses de edad y $60,0 \pm 5,0$ kg PV en finalización. Se alimentaron con dietas isoproteicas (14,5 % PC) e isoenergéticas (3.400 kcal EM/kg de MS), adicionadas con Cr-L-metionina (MiCroPlex®) (0, 200, 400 y 600 ppb). El experimento tuvo una duración de 45 días y se realizó de agosto a noviembre del 2002 en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizada en Saltillo, Coahuila, México. Al tener los animales aproximadamente 95 kg PV, se tomó muestra de 15 ml de sangre por cada animal para determinar la concentración de glucosa, ácido úrico, creatinina, urea, proteínas totales y colesterol. Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 4; dos para el factor sexo y cuatro para nivel de cromo. Los metabolitos en suero no fueron afectados ($P > 0,05$) por el factor sexo. La glucosa en suero disminuyó ($P < 0,05$) y el colesterol incrementó ($P < 0,05$) con cromo en la dieta. Se concluye que el Cr incrementa el metabolismo de glucosa y disminuye el de colesterol, con lo cual puede haber energía disponible para síntesis de proteína la cual es necesaria para el crecimiento de los animales.

Palabras clave: Cromo, cerdos, suero, metabolitos.

ABSTRACT

Metabolites in blood serum obtained from pigs fed with diets supplemented with Chromium-L-Methionine. A total of 48 pigs (*Sus scrofa domesticus*; 24 castrated males and 24 females) of commercial cross-breeds (Yorkshire, Hampshire, Duroc and Landrace) from 3.5 to 4.0 years of age were used. The initial weight was 60.0 ± 5.0 kg during the final growth stage at 45 days. We used (14.5 % CP and 3400 kcal/ME) with chromium addition from September to November 2002. The experiment was carried out at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, located in Saltillo, Coahuila, Mexico. The effect of Chromium-L-Methionine (MiCroPlex®) (0, 200, 400 y 600 ppb) was evaluated as metabolites concentration in the serum of pigs (Glucose, uric acid, creatinine, urea, total proteins and cholesterol). Results of metabolite analyses were processed as a randomized complete design with a factorial arrangement of 2 x 4 (2 sexes and 4 chromium levels). Metabolite concentrations of pigs were not affected ($P > 0.05$) by the sex factor. Glucose in pig serum decreased ($P < 0.05$), and cholesterol increased ($P < 0.05$) in finishing pigs fed with chromic diets. It is concluded that Cr increases glucose and diminishes cholesterol metabolism, which could result in energy production available for protein synthesis, necessary for animal growth.

Key words: Chromium, pigs, serum, metabolites.

¹ Recibido: 25 de abril, 2006. Aceptado: 17 de julio, 2006. Presentado en la LII Reunión del PCCMCA. Nicaragua, 2006.

² Depto. de Nutrición y Alimentos, Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Saltillo, Coahuila, México. Email: rgarca@att.net.mx, cienani@uaan.mx.

³ Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, Nuevo León, México. Email: jkawas@mnademexico.com.

⁴ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Cd. Victoria, Tamaulipas, México. Email: jsalinasc@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La concentración de cromo (Cr) en los alimentos comúnmente utilizados en la alimentación de los cerdos (*Sus scrofa domesticus*), varía grandemente; además, el Cr inorgánico, es pobremente absorbido (0,4 a 3,0%) por los animales (Anderson 1987). Debido a esta situación se recomienda utilizar fuentes de Cr orgánico como una alternativa por su mayor biodisponibilidad del Cr (Anderson 1987). La importancia del cromo radica en la utilización de la glucosa y su impacto consecuente sobre la utilización de los azúcares de la dieta, sobre todo en los animales de rápido crecimiento o aquellos que se encuentran bajo un severo estrés fisiológico y físico, donde se incrementó la excreción del cromo en la orina del cerdo (Mavromichalis 1999). Además, Anderson *et al.* (1991), reportan que una rápida hiperglicemia, desequilibrio en la tolerancia a la glucosa, elevada circulación de insulina y glicosuria son síntomas de deficiencia de cromo. Se ha observado que la suplementación dietética con cromo parece ser beneficiosa en estas situaciones, así como el utilizar dietas de alto contenido energético (Lindemann *et al.* 1995). Por otro lado, es bien conocido que el cromo es un nutriente esencial como Factor de Tolerancia a la Glucosa (FTG) (Steele 1977). Como nutriente esencial, una de las funciones principales del cromo es potenciar la acción de la insulina y de esta forma influye en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas; sin cromo la insulina no funciona apropiadamente (Mertz 1993; Southern y Payne 2003).

El interés en el cromo, más que por tener respuesta inmune, es por que trae como beneficio, un rápido crecimiento, aumento de peso, canales magras y además de afectar la tolerancia a glucosa, la sensibilidad a la insulina, o concentración de ácidos grasos no esterificados en plasma. Esta respuesta de eficacia metabólica se obtiene por su disponibilidad biológica (Kegley *et al.* 1999; Matthews *et al.* 2001; Southern y Payne 2003).

La respuesta inmune de los cerdos, al incluir cromo orgánico en la dieta, puede mejorar la concentración de metabolitos en sangre. Situación no observada al utilizar cromo inorgánico. Por lo cual el (NRC) National Research Council (1988; 1998) no presentan un requerimiento de cromo en el cerdo pero establecen que el cromo orgánico es mejor absorbido que la forma inorgánica. Por lo que Shelton *et al.* (2003),

sugieren que la suplementación de cromo puede tener efectos positivos en algunos aspectos en la calidad del cerdo. Esto conduce a pensar que la adición de cromo es necesaria en las dietas de los animales.

El objetivo de este trabajo fue determinar y evaluar la concentración de metabolitos: glucosa, ácido úrico, creatinina, urea, proteína total y colesterol en suero; a efecto de la suplementación de cromo-L-metionina (MyCroPlex®) en dietas basándose en sorgo (*Sorghum vulgare*) y soya (*Glycine max*) para cerdos en finalización.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se efectuó con 48 cerdos (24 machos castrados y 24 hembras) todos ellos de cruce tipo comercial de las razas Yorkshire, Hampshire, Duroc y Landrace, de 3,5 a 4,0 meses de edad y $60,0 \pm 5,0$ kg de PV (Peso Vivo) promedio. Se utilizaron dietas isoproteicas 14,5 % PC e isoenergéticas 3400 kcal EM/kg de MS; suplementadas con Cr-L-metionina (MiCroPlex®) a razón de 0, 200, 400 y 600 ppb. Al alimento se le realizó análisis químico (proteína cruda, No. 988,05; fibra cruda, 962,09; extracto etéreo, 920,39; de acuerdo a métodos de análisis de la Association of Official Analytical Chemists (1997) y se estimó la energía metabolizable mediante el procedimiento de Crampton y Harris (1969) y National Research Council (1988 y 1998). Los animales se distribuyeron al azar formando cuatro tratamientos de 12 animales cada uno (seis machos castrados y seis hembras). Se alojaron en corraletas de 18 m², equipadas con comedero y bebedero automático. El experimento se realizó de agosto a noviembre del 2002, y tuvo una duración de 45 días más siete días de adaptación a la dieta y al manejo.

Recolección de sangre y análisis químicos

Las muestras de sangre fueron obtenidas por la vena yugular o de la carótida, de tres machos castrados y tres hembras escogidas al azar de cada tratamiento cuando éstos tuvieron aproximadamente 95 kg de PV. Se recolectó 15 ml de sangre por cada animal. Cada muestra se centrifugó a 2.000 rpm por 15 minutos, se separó el suero y se congeló a 0 °C, para su posterior análisis químico de acuerdo a cada determinación.

En las muestras de suero se determinó la concentración de Glucosa, por el método Trinder (Sigma 1990). La urea y ácido úrico, se determinaron por la prueba colorimétrica con el método ortoftaldehído, adaptado de la reacción propuesta por Jung *et al.* (1975). El nivel de ácido úrico se determinó por el método reportado por Trivedi *et al.* (1978). En el colesterol se usó la prueba enzimático-colorimétrico (Sigma 1989a). La creatinina fue obtenida por la prueba colorimétrico-cinético, por fotometría, descrita por Jaffé (Slot 1965). Proteínas totales en suero se determinó de acuerdo a metodología de Sigma (1989b).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables: Glucosa, ácido úrico, creatinina, urea, proteínas totales y colesterol, se sometieron a un análisis de varianza bajo un diseño estadístico completamente al azar con igual número de repeticiones en arreglo factorial 2 x 4 (dos para sexo y cuatro para el nivel de cromo). Cada nivel de cromo incluyó 6 unidades experimentales o cerdos (tres hembras y tres machos castrados) de edad, peso y craza similar. La significancia que se detectó para el efecto de tratamiento se interpretó mediante un ajuste de un modelo de regresión polinomial o tendencia a respuesta (Steel y Torrie 1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los metabolitos en suero sanguíneo para el factor sexo no observaron diferencia significativa ($P \geq 0,05$) entre tratamientos (Cuadro 1). Sin embargo, los niveles promedio de glucosa encontrados para ambos sexos en este trabajo son ligeramente inferiores a los rangos (66,4-116,1 mg/dl) de concentración normal reportados por Merck (2000). Al evaluar concentración de glucosa y colesterol en suero y realizar el análisis estadístico de los mismos (Cuadro 1); éstos fueron afectados ($P \leq 0,05$) por el nivel de cromo en la dieta. El nivel de glucosa en suero se redujo hasta un 16,0 % cuando los cerdos recibieron cromo en la dieta.

Similar concentración en glucosa reportan Evock-Clover *et al.* (1993) al evaluar suero de cerdos de 60 kg de peso vivo suplementados con picolinato de cromo. De acuerdo a sus investigaciones el picolitano de cromo normaliza la glucosa en plasma lo que similarmente reportan Steele *et al.* (1977). Resultados diferentes a los reportados en esta investigación, encuentran Amoikon *et al.* (1995). Ellos reportan que la glucosa en plasma no fue afectada ($P > 0,10$) por el tratamiento dietético. Steele *et al.* (1977), demostraron que el cromo como factor tolerante a la glucosa (FTG) incrementa la sensibilidad de la insulina en cerdos ya que el FTG es biológicamente activo (Kegley *et al.* 1999; Mathews *et al.* 2001).

Cuadro 1. Metabolitos en suero sanguíneo de cerdos machos castrados y hembras en finalización, alimentados con dietas suplementadas con Cr-L-metionina (MiCroPlex®). Saltillo, Coahuila, México. Agosto a noviembre 2002.

Variables (mg/dl) ¹	Sexo												Nivel normal (mg/dl) ¹ sangre
	Machos castrados				1	2	P	Hembras				P	
	Nivel de Cr-L-metionina (ppb) ²							Nivel de Cr-L-metionina (ppb)					
	0	200	400	600				0	200	400	600		
Glucosa	68,8	46,8	56,9	54,4	56,7	58,5	0,58	62,0	56,3	61,7	53,8	0,03	66,4-116,1
Ac. Úrico	1,6	1,0	0,5	1,2	1,1	1,0	0,52	1,0	0,7	1,2	0,9	0,18	0,5-1,95
Creatinina	1,7	2,4	1,7	2,5	2,1	2,0	0,89	1,7	2,5	2,4	1,4	0,63	0,8-2,3
Urea	276,6	284,0	180,2	290,6	258,0	241,9	0,57	192,0	281,6	262,9	231,0	0,16	82-246
PT*	6,5	6,2	6,4	5,9	6,2	5,9	0,22	6,1	6,3	5,8	5,5	0,27	5,8-8,3
Colesterol	68,9	98,7	90,5	98,3	89,1	87,4	0,8	73,8	95,0	108,8	72,1	0,02	81,4-134,1

* Proteínas totales
¹ mg/dl = miligramos por decilitro
² ppb = partes por billón
^P Probabilidad

Esto puede ser explicado debido a que el cromo como componente del FTG potencia la actividad de la insulina, lo cual puede ser el motivo de la disminución de glucosa en suero, lo cual en el presente estudio pueda indicar que el cromo esta promoviendo la actividad de la insulina y esta a su vez, transportando la glucosa hacia el interior de las células para su oxidación.

El colesterol en suero se incrementó hasta un 31,5 % con la adición de cromo a la dieta. Sin rebasar el límite superior del rango normal (81,4-134,1mg/dl) reportado por Merk (2000). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Amoikon *et al.* (1995), quienes reportan que el colesterol en plasma se incrementó ($P < 0,05$) cuando los cerdos recibieron cromo como tripicolinato de cromo en la dieta. De la misma manera, Evock-Clover *et al.* (1993), reportan que la suplementación de picolinato de cromo dietético incrementó el colesterol total en cerdos. Sin embargo, resultados diferentes (Page *et al.* 1993), encuentran que el nivel de colesterol total circulante es reducido cuando los cerdos reciben cromo como tripicolinato de cromo en la dieta.

Referente a los resultados encontrados en esta investigación (NRC 1997) al revisar la literatura existente sobre la suplementación del cromo en dietas para cerdos, los resultados indican que la respuesta del cromo en dietas para cerdos fue variable. Además, sugiere que esta variabilidad puede ser debido al estatus del cromo en el animal, la cantidad de cromo disponible en la dieta y/o el estrés ambiental en que se encuentre el animal (Southern y Payne 2003).

La interacción sexo-nivel de cromo para glucosa y colesterol, no fue diferente ($P > 0,05$), lo que puede indicar que actúan de manera independiente.

Es importante mencionar que los valores para ácido úrico, creatinina, urea y proteínas totales encontrados en el suero tanto para hembras y machos castrados como para los tratamientos respectivos y su interacción, no fueron diferentes ($P > 0,05$) y además, se encuentran dentro de los rangos reportados en el manual Merck (2000).

La prueba de tendencia para colesterol resultó de tipo cuadrático, con la siguiente ecuación de predicción:

$$\hat{Y}_i = 71,6245 + 0,171947x_i - 0,000250x_i^2, \text{ con } 0 \leq x \leq 600 \text{ y una } R^2 = 0,997$$

Al estimar los valores por medio de la ecuación de predicción, se observa que la máxima concentración de colesterol se registra cuando agregamos aproximadamente 345 ppb de cromo a la dieta, antes y después de ese nivel descende la concentración de colesterol en suero; sin rebasar el rango máximo del nivel normal de concentración.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El nivel de glucosa y colesterol fueron afectados por el Cr. A mayor nivel de Cr en la dieta menor concentración de glucosa en suero. Quizás el cromo promovió la actividad de la insulina.

La concentración de colesterol se incrementó con el Cr; pero éste, no rebasó los niveles normales recomendados. Al haber una utilización máxima de la glucosa y síntesis de proteína necesaria para el crecimiento de los animales, lo cual evita la síntesis de colesterol a partir de Acetil-CoA.

Es necesario realizar más investigación sobre la adición del Cr orgánico a la dieta de cerdos y su efecto en la concentración de metabolitos en suero del animal.

LITERATURA CITADA

- AMOIKON, E. K.; FERNANDEZ, J. M.; SOUTHERN, L. L.; THOMPSON, D. L. JR.; WARD, T. L.; OLCOTT, B. M. 1995. Effect of chromium tripicolinate on growth, glucose tolerance, insulin sensitivity, plasma metabolites, and growth hormone in pigs. *J. Anim. Sci.* 73:1123-1130.
- ANDERSON, R. A. 1987. Chromium in tissues and fluids. *In*: W. Mertz. ed. Trace elements in human and animal nutrition. 5 ed.. Academic Press, New York. p. 225-244.
- ANDERSON, R. A.; POLANSKY, M. M.; BYRDEN, N. A.; CANARY, J. J. 1991. Supplemental chromium effects on glucose, insulin, glucagon and urinary chromium losses in subjects consuming controlled low-chromium diets. *Am. J. Clin. Nutr.* 54:909-916.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 1997. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. 16 th. Cap. ed. Arlington, USA. p. 4-1, 4-4, 4-13, 4-25 y 4-26.

- CRAMPTON, E. W.; HARRIS, L. E. 1969. Applied animal nutrition. The use of feedstuffs in the formulation of livestock rations. Second edition. W. H. Freeman and Co. USA. p. 56-86.
- EVOCK-CLOVER, C.M.; POLANSKY, M. M.; ANDERSON, R. A.; STEELE, N. C. 1993. Dietary chromium supplementation with or without somatotropin treatment alters serum hormones and metabolites in growing pigs without affecting growth performance. *J. Nutr.* 123:1504-1512.
- JUNG, D.; BIGGS, H.; ERIKSON, J.; LEDYARD, P. U. 1975. New colorimetric reaction for end-point, continuous-flow, and kinetic measurement of urea. *Clin. Chem.* 21:1136-1140.
- KEGLEY, E. B.; FLAKER, T. M.; MAXWELL, C. W. 1999. Effect of dietary chromium-L-methionine on glucose metabolism of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 77 (Suppl. 1):67 (Abstr.).
- LINDEMANN, M. D.; WOOD, C. M.; HARPER, A. F.; KORNEGAY, E. T.; ANDERSON, R. A. 1995. Dietary chromium picolinate additions improve gain:feed and carcass characteristics in growing-finishing pigs and increase litter size in reproducing sows. *J. Anim. Sci.* 73:457-465.
- MATTHEWS, J. O.; SOUTHERN, L. L.; FERNÁNDEZ, J. M.; PONTIF, J. E.; BIDNERAND T. D.; ODGAARD, R. L. 2001. Effect of chromium picolinate and chromium propionate on glucose and insulin kinetics of growing barrows and on growth and carcass traits of growing-finishing barrows. *J. Anim. Sci.* 79:2172-2178.
- MAVROMICHALIS, J. 1999. A chromium supplement after weaning? *Pig International* 29(3): 23-24.
- MERCK, 2000. Guía de referencia: Bioquímica sérica (criterios de valoración). Manual de Merck de veterinaria. 5 ed. Océano grupo editorial, S. A. Barcelona España. p. 2454-2455.
- MERTZ, W. 1993. Chromium in human nutrition: A review. *J. Nutr.* 123:626-633.
- NRC. 1988. Nutrient requirements of swine. 9 ed. Nutrient requirements of domestic animals. National Academy Press. Washington DC., USA. p. 3-15; 115-116.
- NRC. 1997. The role of chromium in animal nutrition. Natl. Acad. Press, Washington, D.C.
- NRC. 1998. Nutrient requirements of swine. Tenth Revised Edition. Nutrient requirements of domestic animals. National Academy Press. Washington DC., USA. p. 51-52.
- PAGE, T. G.; SOUTHERN, L. L.; WARD, T. L.; THOMPSON, D. L. JR. 1993. Effect of chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 71: 656-662.
- SHELTON, J. L.; PAYNE, R. L.; JOHNSTON, S. L.; BIDNER, T. D.; SOUTHERN, L. L.; ODGAARD, R. L. 2003. Effect of chromium propionate on growth, carcass traits, pork quality and plasma metabolites in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 81:2515-2524.
- SIGMA. 1989a. Cholesterol. Quantitative, enzymatic determination of total cholesterol in serum or plasma at 500 nm. Tech. Bull. No. 352. Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.
- SIGMA. 1989b. Total protein. Quantitative, colorimetric determination in serum or plasma at 540 nm. Tech. Bull. No. 541. Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.
- SIGMA. 1990. Glucose (Trinder). Quantitative, enzymatic determination of glucose in serum or plasma at 505 nm. Tech. Bull. No. 315. Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.
- SOUTHERN, L. L.; PAYNE, R. L. 2003. Role of chromium in swine nutrition explored. *Feedstuffs*. Vol. 75. 34:1-3.
- SLOT, C. 1965. Plasma creatinine determination. *Scand, J. Clin. Lab. Invest.* 17: 381.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE J. H. 1986. Bioestadística: Principios y procedimientos. 2 ed. McGraw-Hill Publishing Co., New York. USA. p. 132-165, 442-451.
- STEELE, N. C.; ALTHEN, T. G.; FROBISH, L. T. 1977. Biological activity of glucose tolerance factor in swine. *J. Anim. Sci.* 45:1341-1345.
- TRIVEDI, R. C.; LEBRAN, L.; BERTA, E; STONG L. 1978. New enzymatic method for serum uric acid at 500 nm. *Clin. Chem.* 24:1980-1911 (abstract).