



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES
RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA A LOS
PARÁSITOS TREMATODOS”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y
Zootecnista

Autora:

Ruiz Mera María Belén

Tutora:

Cueva Salazar Nancy Margoth Dra. Mg

LATACUNGA – ECUADOR

Marzo 2021

DECLARACION DE AUTORIA

María Belén Ruiz Mera, con cédula de ciudadanía No. **1003954342**, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “**Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos trematodos.**”, siendo la **Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg.**, Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 08 de marzo del 2021



María Belén Ruiz Mera
Estudiante
C.C. 1003954342



Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar
Docente Tutor
C.C. 0501616353

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **RUIZ MERA MARIA BELEN**, identificada con cédula de ciudadanía **1003954342** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector Encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos trematodos**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico: Inicio de la carrera: Abril - Agosto 2016 - Finalización: Octubre 2020 - Marzo 2021

Aprobación en Consejo Directivo: 26 de enero del 2021

Tutora: Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

Tema: “Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos trematodos”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 08 días del mes de marzo de 2021.



María Belén Ruiz Mera

LA CEDENTE

Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

“ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA A LOS PARÁSITOS TREMATODOS” de Ruiz Mera María Belén, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 08 de marzo del 2021



Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

DOCENTE TUTOR

C.C.: 0501616353

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: **Ruiz Mera María Belén**, con el título del Proyecto de Investigación: “**ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA A LOS PARÁSITOS TREMATODOS**” ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 08 de marzo del 2021

**EDIE
GABRIEL
MOLINA
CUASAPAZ**

Firmado digitalmente por
EDIE GABRIEL
MOLINA
CUASAPAZ
Fecha: 2021.03.05
17:09:24 -05'00'



Lector 1 (Presidente)
MVZ. MTR. Edie Gabriel Molina Cuasapaz
CC: 1722547278

Lector 2
DR. MG. Jorge Washington Armas Cajas
CC: 0501556450



Lector 3
MVZ. MG. Paola Jael Lascano Armas
CC: 0502917248

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por permitirme llegar tan lejos dándome la fortaleza y salud para lograr obtener esta meta tan anhelada en mi vida. Agradezco a mi padre que con su constancia, esfuerzo y trabajo supo apoyarme en los momentos más difíciles de mi carrera y siempre me impulso para que siguiera adelante sin rendirme.

A mi madre quien siempre me brindo positivismo ante las adversidades, aconsejándome y guiándome a cada instante de mi vida.

Le doy gracias a mi prometido quien me acompañó en toda mi carrera y nunca dejo que me cayera en ninguna circunstancia, me enseñó a luchar por lo que quiero y alcanzar cada meta que me proponga llegar.

También quiero agradecer a mi tutora del proyecto de investigación la Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg. por la orientación y por la ayuda brindada en todo el transcurso de mi carrera, aportándome más conocimientos que me ayudaran en mi vida profesional.

María Belén Ruiz Mera

DEDICATORIA

A mi padre Richar Ruiz y a mi madre Rosa Mera a mis hermanos Richard y Alisson por brindarme su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida y por ser mi inspiración día a día para llegar a cumplir esta meta tan importante.

A mi prometido Jorge quien estuvo a mi lado con sus consejos y fue un apoyo constante en todo el lapso de mi carrera.

María Belén Ruiz Mera

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA A LOS PARÁSITOS TREMATODOS”

AUTOR: Ruiz Mera María Belén

RESUMEN

El presente proyecto de investigación se desarrolló en base a una metodología documental, donde se analizaron las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos Trematodos para diferentes especies de animales. Se elaboró una base de datos, la cual está conformada por: gen, especie animal, localización del gen o cromosoma (descripción, localización y área), exón relacionado con la inmunidad, intrón relacionado con la inmunidad, secuencia de proteínas, inmunidad con la cual está relacionado, patología con la cual se lo evidencio y referencia. Los genes investigados fueron los que se relacionan directamente con la inmunidad ante parásitos trematodos en diferentes especies de animales, estos genes son: IFN- γ (bovinos, ovinos, porcinos, equinos, felinos, lagomorfos y camélidos sudamericanos), IL-4 (ovinos, equinos, caninos, y aves), IL-10 (aves), IL-13 (Aves) y TCD4 (Aves). La información recopilada en esta investigación se la obtuvo por medio del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) en donde se pudo encontrar información específica de los genes relacionados con la inmunidad ante parásitos trematodos de las diferentes especies animales abarcadas en el presente proyecto de investigación. Se investigaron 26 genes (varios genes en diferentes especies) de los cuales se encontró información del 54% (14 genes) y de estos se identificó que el 77% (10 genes) de las localizaciones relacionadas con la inmunidad se encuentran en los exones y el 33% (3 genes) restantes se encuentran en los intrones.

Palabras clave: Secuencia codificante, Parásitos, Trematodos, Gen, Cromosoma, Exón, Intrón, Proteínas, Patología e inmunidad.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

THEME: "ANALYSIS OF THE CODING SEQUENCES OF GENES RELATED TO THE IMMUNE RESPONSE TO TREMATODE PARASITES"

AUTHOR: Ruiz Mera María Belén

ABSTRACT

The present research project was developed based on a documentary methodology, where the coding sequences of the genes related to the immune response of the Trematode parasites for different species of animals were analyzed. A database was prepared, which is made up of: gene, animal species, location of the gene or chromosome (description, location, and area), exon related to immunity, intron related to immunity, protein sequence, immunity with which is related, pathology with which it was evidenced and referenced. The genes investigated were those that are directly related to immunity against trematode parasites in different species of animals, these genes are IFN- γ (bovine, ovine, porcine, equine, feline, lagomorph, and South American camelid), IL-4 (ovine, equines, canines, and birds), IL-10 (birds), IL-13 (Birds) and TCD4 (Birds). The information collected in this research was obtained through the National Center for Biotechnology Information (NCBI), where specific information could be found on the genes related to immunity against fluke parasites of the different animal species covered in this research project. 26 genes were investigated (several genes in different species) of which 54% (14 genes) information was found and of these, it was identified that 77% (10 genes) of the localizations related to immunity are found in the exons and the remaining 33% (3 genes) are found in introns.

Keywords: Coding sequence, Parasites, Trematodes, Gene, Chromosome, Exon, Intron, Proteins, Pathology, and immunity.

INDICE DE PRELIMINARES

| | |
|---|------|
| DECLARACION DE AUTORIA | ii |
| CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR | iii |
| AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN | v |
| AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN..... | vi |
| AGRADECIMIENTO | vii |
| DEDICATORIA..... | viii |
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | x |
| INDICE DE PRELIMINARES | xi |
| INDICE DE TABLAS..... | xv |
| INDICE DE ANEXOS | xvi |

INDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| 1. INFORMACIÓN GENERAL..... | 1 |
| 2. JUSTIFICACIÓN..... | 2 |
| 3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO..... | 2 |
| 3.1. Directos..... | 2 |
| 3.2. Indirectos..... | 2 |
| 4. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 2 |
| 5. OBJETIVOS..... | 3 |
| 5.1. Objetivo General..... | 3 |
| 5.2. Objetivos Específicos..... | 3 |
| 6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS..... | 4 |
| 7. FUNDAMENTACION CIENTIFICA..... | 7 |
| 7.1. TREMATODOS..... | 7 |
| 7.1.1. Clasificación de los trematodos..... | 7 |
| 7.1.2. Principales parásitos Trematodos que afectan a las diferentes especies animales .. | 8 |
| 7.2. VACUNAS..... | 8 |
| 7.2.1. Vacunología reversa..... | 9 |
| 7.2.2. Vacunología inversa..... | 9 |
| 7.3. VACUNAS DE ADN..... | 9 |
| 7.3.1. Ventajas de las vacunas de ADN..... | 10 |
| 7.3.2. Desventajas de las vacunas de ADN..... | 10 |
| 7.3.3. Plásmidos o Vectores..... | 10 |
| 7.4. GEN..... | 11 |
| 7.4.1. Estructura de un gen..... | 11 |
| • Exones..... | 11 |
| • Intrones..... | 11 |
| 7.4.2. Splicing alternativo..... | 12 |
| 7.4.3. Tipos de genes..... | 12 |
| • Genes estructurales..... | 12 |
| • Genes reguladores..... | 12 |
| 7.5. SECUENCIA CODIFICANTE DE GENES..... | 12 |

| | |
|--|----|
| 7.6. GENES DE ACCIÓN INMUNITARIA..... | 13 |
| Th2..... | 13 |
| Th17..... | 13 |
| CL5, CL4..... | 13 |
| IFN- γ | 13 |
| IL-4..... | 13 |
| IL-10..... | 13 |
| IL-13:..... | 13 |
| T CD4..... | 14 |
| 7.7. INMUNOGLOBULINAS | 14 |
| • IgG..... | 14 |
| • IgE..... | 14 |
| • IgY..... | 14 |
| 7.8. RESPUESTA INMUNITARIA A PARÁSITOS | 14 |
| 7.9. INMUNIDAD PARASITARIA | 15 |
| 7.10. INMUNIDAD HUMORAL..... | 15 |
| 7.11. INMUNIDAD CELULAR | 15 |
| 7.12. CENTRO NACIONAL PARA LA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI). | 16 |
| 8. PREGUNTAS CIENTIFICAS..... | 16 |
| 9. METODOLOGÍA | 17 |
| 9.1. Tipo de Investigación | 17 |
| ○ Documentales | 17 |
| 9.2. Métodos | 17 |
| ○ Analítico | 17 |
| 9.3. Técnicas..... | 17 |
| ○ Ficha Bibliográfica..... | 17 |
| ○ Ficha de Información Electrónica | 17 |
| ○ Tabla de Excel..... | 17 |
| 10. ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS..... | 18 |
| 10.1. Interferón gamma (IFN- γ) en Bovinos | 18 |
| 10.2. Interferón gamma en Ovinos | 19 |

| | | |
|--------|---|----|
| 10.3. | Interferón gamma en Porcinos | 20 |
| 10.4. | Interferón gamma en Equinos | 22 |
| 10.5. | Interferón gamma en Felinos | 23 |
| 10.6. | Interferón gamma en Lagomorfos | 24 |
| 10.7. | Interferón gamma en Camélidos Sudamericanos | 25 |
| 10.8. | Interleucina 4 (IL-4) en Ovinos | 25 |
| 10.9. | Interleucina 4 en Equinos | 26 |
| 10.10. | Interleucina 4 en caninos | 27 |
| 10.11. | Interleucina 4 en Aves | 27 |
| 10.12. | Interleucina 10 (IL-10) en Aves..... | 28 |
| 10.13. | Interleucina 13 en Aves | 29 |
| 10.14. | T CD4 en Aves | 30 |
| 11. | IMPACTO | 31 |
| 11.1. | Impacto técnico..... | 31 |
| 12. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 32 |
| 12.1. | CONCLUSIONES | 32 |
| 12.2. | RECOMENDACIONES..... | 33 |
| 13. | BIBLIOGRAFÍA | 34 |
| | ANEXOS | 41 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Interferón Gamma en Bovinos | 19 |
| Tabla 2. Interferón Gamma en Ovinos | 20 |
| Tabla 3. Interferón Gamma en Porcinos..... | 22 |
| Tabla 4. Interferón Gamma en Equinos..... | 23 |
| Tabla 5. Interferón Gamma en Felinos..... | 24 |
| Tabla 6. Interferón Gamma en Lagomorfos | 24 |
| Tabla 7. Interferón Gamma en Camélidos Sudamericanos | 25 |
| Tabla 8. Interleucina 4 en Ovinos..... | 26 |
| Tabla 9. Interleucina 4 en Equinos | 26 |
| Tabla 10. Interleucina 4 en Caninos | 27 |
| Tabla 11. Interleucina 4 en Aves | 28 |
| Tabla 12 Interleucina 10 en Aves | 29 |
| Tabla 13. Interleucina 13 en Aves | 29 |
| Tabla 14. T CD4 en Aves | 30 |

INDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. AVAL DE TRADUCCIÓN | 41 |
| Anexo 2. HOJA DE VIDA DEL TUTOR | 42 |
| Anexo 3. HOJA DE VIDA DEL ESTUDIANTE | 43 |
| Anexo 4. BASE DE DATOS DE GENES DE PARÁSITOS TREMATODOS | 44 |
| Anexo 5. RESULTADOS CUANTITATIVOS | 48 |
| Anexo 6. DIAGRAMAS CON PORCENTAJES | 49 |

1. INFORMACIÓN GENERAL.

Título del Proyecto: Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos trematodos.

Fecha de inicio: 4 de noviembre del 2020

Fecha de finalización: 26 de febrero del 2021

Facultad que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado: Mecanismo Inmunológico Humoral en Animales Domésticos.

Equipo de Trabajo:

Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg. (Anexo 1)

María Belén Ruiz Mera (Anexo 2)

Área de Conocimiento:

AGRICULTURA, SILVICULTURA Y PESCA

Sub área:

64. Veterinaria

Línea de investigación: Salud animal

Sub líneas de investigación de la Carrera: Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad Animal.

2. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se realizó debido a la necesidad de disponer de información específica de las secuencias codificantes de los parásitos trematodos de los animales domésticos con el propósito de analizar los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de estos parásitos, mediante la recopilación de información de artículos científicos, revistas científicas, artículos académicos, libros, como también el sistema Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), que es un sistema encargado de agrupar una base de datos muy amplia, que nos permitirán identificar y determinar la secuencia codificante de los genes de cada uno de los parásitos (trematodos) que tiene cada especie animal. (1)

El aporte que se hizo es la creación de una base de datos la cual contendrá información específica de las secuencias genéticas de parásitos trematodos, y beneficiará a Biotecnólogos; productores de animales de granja y dueños de mascotas; especies animales mayores y menores. El impacto de esta investigación es de tipo Técnico y brindo información que servirá para la creación de vacunas de ADN mediante la obtención del antígeno, ayudando a entender de mejor manera la estructura y la función que tienen las secuencias codificantes de los genes de cada parásito.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Directos:

- Biotecnólogos
- Proyecto de investigación Mecanismo Inmunológico Humoral en Animales Domésticos.

3.2. Indirectos:

- Productores de animales de granja y dueños de mascotas.
- Especies animales mayores y menores.

4. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

El desconocimiento del significado y función de la secuencia codificante limita la comprensión del efecto biológico de esta sobre los diferentes genes asociados con diversas enfermedades, como las que se derivan de los parásitos trematodos (2). Esto a su vez ocasiona dificultades para definir correctamente la influencia de la secuencia codificante en la susceptibilidad,

gravedad y actividad de las diferentes enfermedades causadas por parásitos trematodos (trematodiasis) en animales (3).

Las trematodiasis causadas por parásitos trematodos afectan a los animales que pastorean en algunas regiones donde se mezclan ciertas características topográficas y ambientales que ayudan al desarrollo de los parásitos e infección de las pasturas. Las enfermedades parasitarias provocadas por trematodos afectan a los animales domésticos (bovinos, ovinos, caprinos, equinos, cerdos, caninos y felinos), salvajes (herbívoros y omnívoros) y circunstancialmente al hombre. Una de las enfermedades causadas por trematodos es la fasciolosis de la cual se estima que afecta a más de 300 millones de bovinos y 250 millones de ovinos del mundo, produciendo pérdidas anuales superiores a los U\$S 3 billones (4).

En la actualidad existen diversos estudios sobre la secuencia codificante de los parásitos trematodos, sin embargo, la información generada está orientada a un solo individuo o grupo específico de estos parásitos, por lo cual no existe una investigación que recopile de manera general a los parásitos trematodos y de manera específica la secuencia codificante asociada a los mismos. La importancia de una recopilación de información de este tipo radica en la utilidad que esta aporta para la generación de vacunas de ADN capaces de codificar y modificar una proteína viral para así eliminar al virus o mitigar sus efectos (5).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

- Analizar las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (Trematodos).

5.2. Objetivos Específicos

- Investigar las secuencias codificantes de los genes de los parásitos (Trematodos) de la base de datos de El Centro Nacional para la Información Biotecnológica.
- Elaborar una base de datos de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (Trematodos) de diferentes especies animales.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

| Objetivos Específicos | Actividades | Resultados de las actividades | Descripción de las actividades |
|--|---|--|--|
| <p>Investigar las secuencias codificantes de los genes de los parásitos (Trematodos) de la base de datos de El Centro Nacional para la Información Biotecnológica.</p> | <p>Revisión bibliográfica de los parásitos nematodos de las distintas especies animales domésticas y producción.</p> <p>Análisis de las secuencias codificantes de los genes en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).</p> | <p>Número, localización y área específica de los exones de los genes en:</p> <p>IFN-γ</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bovinos</i>: Cromosoma 5, Exón 1 de 4, Localizaciones 139 y 169. • <i>Ovinos</i>: Cromosoma 3, Intrón 3 de 3, Localización -641. • <i>Porcinos</i>: Cromosoma 5, Exón 4 de 4, Localización 67. • <i>Equinos</i>: Cromosoma 6, Exón 4 de 4, Localización 21. • <i>Felinos</i>: Cromosoma B4, Intrón 1 de 3, Localización -155. • <i>Lagomorfos.</i>: Cromosoma 4, Exón 1 de 4, Localización -173. • <i>Camélidos sudamericanos</i>: Cromosoma 12. <p>CL5</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bovinos</i>: Sin Información • <i>Caprinos</i>: Sin Información <p>Th 17</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Artículos Científicos • Revistas científicas • Libros • Libros electrónicos, • Base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).. |

| | | | |
|--|--|--|--|
| | | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Ovinos</i>: Sin Información • <i>Equinos</i>: Sin Información <p>IL4</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Ovinos</i>: Cromosoma 5, Exón 4 de 4, Localización 72. • <i>Equinos</i>: Cromosoma 14, Exón 4 de 4, Localización 67. • <i>Caninos</i>: Cromosoma 11, Exón 1 de 4, Localización 63 • <i>Aves</i>: Cromosoma 13, Exón 3 de 4, Localización -369 <p>Th2</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Caprinos</i>: Sin Información • <i>Porcinos</i>: Sin Información • <i>Caninos</i>: Sin Información • <i>Felinos</i>: Sin Información • <i>Cobayos</i>: Sin Información • <i>Lagomorfos</i>: Sin Información • <i>Camélidos Sudamericanos</i>: Sin Información • <i>Aves</i>: Sin Información <p>IL10</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Aves</i>: Cromosoma 26, Exón 3 de 4, Localización 786. <p>IL13</p> | |
|--|--|--|--|

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | <ul style="list-style-type: none"> • <i>Aves</i>: Cromosoma 13, Exón 1 de 4, Localización 104. <p>T CD4</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Aves</i>: Cromosoma 1, Intrón 1 de 9, Localización -151. | |
| Elaborar una base de datos de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (Trematodos) de diferentes especies animales. | Comprobar los datos obtenidos sobre las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad de los parásitos Trematodos, implementando una base de datos en Excel. | <p>Parásitos Trematodos</p> <p>Datos completos (gen, especie animal, # de exón, localización y área, la relación con la respuesta inmunitaria, patologías donde se evidencio y referencia): 54% / Sin Datos: 46% (ver Anexo 6)</p> <p>IFN-γ Bovinos (ver Tabla 1) IFN-γ Ovino (ver Tabla 2) IFN-γ Porcino (ver Tabla 3) IFN-γ Equino (ver Tabla 4) IFN-γ Felino, (ver Tabla 5) IFN-γ Lagomorfos (ver Tabla 6) IFN-γ camélidos sudamericanos (ver Tabla 7) IL4 Ovinos (ver Tabla 8) IL4 Equinos (ver Tabla 9) IL4 Caninos (ver Tabla 10) IL4 Aves (ver Tabla 11) IL10 Aves (ver Tabla 12) IL13 Aves (ver Tabla 13) T CD4 Aves (ver Tabla 14)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Artículos Científicos • Revistas científicas • Libros • Libros electrónicos, • Base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). |

7. FUNDAMENTACION CIENTIFICA

7.1. TREMATODOS

Son aquellos parásitos que pertenecen al grupo de los platelmintos, son conocidos como duelas o gusanos planos, son llamados así por su cuerpo aplanado, carecen de segmentación y son particularmente cortos. Por lo general estos parásitos poseen dos aparatos reproductores es decir son hermafroditas y carecen de ano; en el género *Schistosoma* es una excepción, pues en este si hay individuos macho y hembra. El sistema reproductor masculino está conformado por testículos con conductos eferentes y deferentes, relacionados a las glándulas prostáticas, que conducen los espermatozoides al órgano copulador; en cambio el órgano reproductor femenino posee ovario y glándulas que proveen elementos necesarios para el desarrollo del huevo, tiene conductos genitales con un trayecto complicado y variable según las especies. (6)

La totalidad de los trematodos tienen ciclos vitales indirectos y complejos que afectan a diferentes especies, cuando son adultos son endoparásitos de vertebrados o invertebrados, donde se produce la generación sexual y cuando son larvas son de moluscos gasterópodo de hábitos acuáticos o terrestres donde se produce la reproducción asexual y, a veces necesita de un tercer anfitrión. (7)

7.1.1. Clasificación de los trematodos

- a) *Digenea*: Aquellos parásitos del tracto digestivo de vertebrados, poseen ciclo evolutivo indirecto y por lo general su hospedador intermediario es un molusco. Los trematodos digénidos presentan ventosas y su forma es ovalada como una hoja.
- b) *Aspidogastrea*: Por lo general son parásitos de invertebrados, muy pocos lo son de tortugas o peces. Se caracterizan por la presencia de un gran disco adhesivo ventral que consiste en una serie surcos transversos y estos poseen como órganos excretores los protonefridios (enlaces de túbulos de extremos ciegos conectados entre sí).
- c) *Didymozoida*: Son parásitos de peces o calamares, en muchos casos se desconoce su ciclo biológico y carecen de información ya que no son tan habituales en ninguna especie a excepción de los peces que no son muy estudiados. (8)

7.1.2. Principales parásitos Trematodos que afectan a las diferentes especies animales

| PARASITO | ORGANO | ESPECIE ANIMAL |
|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| <i>Alaria spp</i> | Intestino delgado | Caninos y Felinos |
| <i>Dicrocoelium spp</i> | Conductos biliares y vesícula biliar | Bovinos, Ovinos, Caprinos, Porcinos, Caninos Y Felinos |
| <i>Eurytrema pancreaticum</i> | Conductos pancreáticos | Bovinos, Ovinos, Caprinos, Porcinos |
| <i>Fasciola hepática</i> | Hígado y vesícula biliar | Bovinos, Ovinos, Caprinos |
| <i>Fasciola gigantica</i> | Conductos biliares y vesícula biliar | Bovinos, Ovinos, Caprinos |
| <i>Fascioloides magna</i> | Hígado | Bovinos, Ovinos, Caprinos |
| <i>Gastrodiscus aegyptiacus</i> | Intestino delgado y colon | Caballos y Porcinos |
| <i>Heterobilharzia americana</i> | Venas mesentéricas | Caninos |
| <i>Opisthorchis felineus</i> | Vías hepáticas y biliares | Caninos y Felinos |
| <i>Paramphistomum spp</i> | Estómago e intestino delgado | Bovinos, Ovinos, Caprinos |
| <i>Prosthogonimus spp</i> | Oviducto, bolsa de Fabricio | Aves |
| <i>Schistosoma spp</i> | Vasos sanguíneos | Bovinos, Ovinos, Caprinos, Caballos, Felinos |

Fuente: Junquera. P., 2017

7.2.VACUNAS

Son aquellas soluciones producidas con toxoides, bacterias, virus atenuadas o muertos; estos se administran en seres vivos para generar inmunidad activa y de larga acción contra alguna enfermedad de cualquier origen entonces estimulará la producción de defensas y anticuerpos que luego actuará frente a futuras infecciones, ya que el sistema inmune podrá reconocer el agente infeccioso y lo destruirá. (9)

7.2.1. Vacunología reversa

Es la que permite realizar innovadoras aproximaciones para el desarrollo de vacunas basadas en un determinante antigénico o también llamado epítipo que provienen del genoma completo, esto ayudara a diseñar una vacuna sintética conformada por cadenas de epítipos codificados por microorganismos, siendo poco inmunogénicos o que demuestren reactividad cruzada con otros genes que posea el propio organismo y así se comprobaría la existencia de una inmunidad protectora. (10)

7.2.2. Vacunología inversa

Es un abordaje basado en la genómica que ayuda en el desarrollo de vacunas es decir en este procedimiento se examinará el genoma de un patógeno mediante enfoques bioinformáticas y que consta de una base de análisis de las secuencias del mismo genoma, esto a su vez permitirá identificar los antígenos con más posibilidades para desarrollar una vacuna, donde se incluye genes codificados para proteínas con localización extracelular, péptidos señalizados, y epítipos de células B. cabe recalcar que esta vacunología inversa no tiene necesario cultivar el microorganismo ya que el proceso comienza con la información recopilada de la base de datos mencionada anteriormente. (11)

7.3.VACUNAS DE ADN

También conocidas como vacunas genéticas, vacunas de ácidos nucleicos o vacunas de ADN desnudo, entre otros términos, emplean una metodología relativamente simple que ha abierto una nueva era en la inmunología, con un alto potencial como vacunas profilácticas y terapéuticas.

En lugar de incluir al agente infeccioso (atenuado o muerto) o proteínas del mismo, estas vacunas están conformadas por genes que codifican antígenos clonados en plásmidos incapaces de producir infección, pero al ser inoculados expresan antígenos en la célula huésped. Las vacunas de ADN pueden acarrear genes que codifican una o más proteínas antigénicas de uno o varios agentes patógenos y que son capaces de inducir inmunidad protectora; además, se pueden incluir genes que potencian la respuesta inmune. (12)

Las vacunas de ADN inducen a la producción de anticuerpos y respuestas en células T CD4+ que ayudan en animales, pero su mayor utilidad es a nivel inmunológico por su capacidad de inducir

respuestas de células T CD8+, lo cual es el mecanismo mayor de protección contra patógenos intracelulares. (13)

7.3.1. Ventajas de las vacunas de ADN

- Brindan seguridad, dado que no usan microorganismos vivos capacidad de inducir una respuesta inmunitaria celular y humoral; al igual que tienen facilidad de modificar los antígenos codificados en los plásmidos;
- Tienen una vida media mayor, por lo que se consigue una mejor estabilidad en cuanto a la temperatura de almacenamiento y transporte, lo que permite prescindir de la cadena fría utilizada en las vacunas convencionales. (14)

7.3.2. Desventajas de las vacunas de ADN

- El ADN se podría integrar en el cromosoma si no se tiene cuidado con el promotor de transcripción utilizado.
- Las vacunas de ADN deben ser aprobadas durante más tiempo para ver sus efectos in vivo a largo plazo. (15)

7.3.3. Plásmidos o Vectores

Son la unidad funcional de las vacunas de ADN, en estos vectores se insertan los genes que codifican a las proteínas de interés y son de origen bacteriano. Los plásmidos bacterianos son moléculas de ADN circular que se autorreplican de forma extracromosómica en las bacterias y se han utilizado de forma amplia para la expresión de proteínas en sistemas de mamíferos. Los genes codificados en estos plásmidos se encuentran bajo el control de promotores, casi siempre de origen viral. Los promotores son secuencias cortas de ADN; a éste se unen diversos factores de transcripción que ayudan a guiar y activar a las polimerasas y se encuentran activos de forma constitutiva en la mayor parte de las células eucariotas. Seguido del promotor se encuentra el gen de interés, que a su vez está seguido por una señal de poliadenilación, por ejemplo, la región no traducida 3' del gen de la hormona bovina del crecimiento (BGH-3'-UTR), que contiene las secuencias apropiadas para estabilizar los transcritos del gen de interés. Los plásmidos tienen además diversos genes de resistencia a antibióticos, como son la ampicilina lo cual permite su selección en cultivos de bacterias transformadas. (14)

7.4. GEN

Es todo segmento de ADN que se encuentra luego de un promotor y que puede ser transcrito por un RNA funcional, siendo la unidad molecular de la herencia donde se almacena toda información genética. Es decir que cada gen es una unidad molecular que codifica un producto funcional específico, como puede ser una proteína. Al mismo tiempo, es responsable de transmitir dicha información a la descendencia del organismo, los genes se encuentran dentro de los cromosomas. Cada gen ocupa una posición específica, denominada locus, a lo largo de la gigantesca cadena secuencial que compone el ADN (16).

La manera que está organizada la información es a través de letras genéticas o letras del alfabeto genético estas son la adenina, citosina, guanina y timina, es decir lo que hace que cada gen sea diferente con el orden de estas letras del código del ADN, respectivamente estas constituyen las bases de nucleótidos del ADN (17).

7.4.1. Estructura de un gen

La estructura de un gen a nivel estructural se amplía la idea de un gen como un segmento de ADN constituido por intrones y exones, para concebirlo como una estructura que además contiene secuencias reguladoras y regiones promotoras (18).

- **Exones:** es aquella región del gen donde contiene ADN codificante para una proteína, es decir esta región no es separada durante el proceso de corte, por lo tanto, se mantienen en el ARN mensajero maduro (18). En los genes que codifican una proteína, son los exones los que contienen la información para producir la proteína codificada en el gen, además, cada exón codifica una porción específica de la proteína completa, por lo tanto, el conjunto de exones forma la región codificante del gen (19).

Cuando el ARN se transcribe por primera vez, es una molécula demasiado larga y las partes importantes del ARN son los exones, cabe recalcar que a veces hay trozos grandes de ARN que son eliminados. Finalmente, el concepto de exones son los que permanecen en el ARNm maduro y, finalmente, son el código de los aminoácidos. (20)

- **Intrones:** es aquella sección del gen donde no contiene ninguna instrucción para la síntesis proteica, es decir que esta parte no codifica ningún aminoácido. Las zonas que no se expresen dentro del gen son los intrones y estos permiten comunicarse entre los exones (21). Además, estos intrones son quitados por el ARN que empalma como el ARN se madura, significando

que no están expresados en el producto final del ARN de mensajero (mRNA), mientras que los exones continúan covalente ser pegados a uno otro para crear el mRNA maduro (22).

7.4.2. Splicing alternativo

El Splicing o empalme alternativo en el ARN mensajero (ARNm) es el proceso donde se cortan los intrones y se empalman los exones del preARNm para generar un ARNm que se traducirá a una proteína. Es decir que este proceso contribuye de una manera esencial a la diversidad proteica de los organismos y genera segmentos de mRNA de gran variabilidad que pueden insertar o eliminar aminoácidos, cambiar la pauta de lectura, o introducir un codón de parada (23).

7.4.3. Tipos de genes

- **Genes estructurales:** Son aquellos que codifican para proteínas, que podrían ser reguladoras de genes, o codifican ARN específicos que sólo se transcriben. Muchos genes se encuentran constituidos por regiones codificantes (exones) interrumpidas por regiones no codificantes (intrones) que son eliminadas en la formación del ARN. La secuencia de bases presente en el ARN determina la secuencia de aminoácidos de la proteína por medio del código genético (24).
- **Genes reguladores** sin transcriptos, como los genes o secuencias de replicación que especifican el sitio de iniciación y terminación de la replicación del ADN. Es decir son los genes que carecen de información codificante, pero que en cambio cumplen funciones reguladoras y de ordenamiento, tienen roles puntuales durante la mitosis y la meiosis, o que denotan el lugar en que deberán combinarse enzimas u otras proteínas durante la síntesis (25).

7.5.SECUENCIA CODIFICANTE DE GENES

La secuencia codificante es una tecnología que permite conocer y descifrar el código genético que tienen todos los seres vivos. Se trata de ‘leer’ ese código, que contiene información imprescindible para su desarrollo y funcionamiento, como si de un libro de instrucciones genéticas se tratase. Estas señas de identidad, que definen las características y la firma genética de los organismos biológicos, vienen inscritas en moléculas llamadas ácidos nucleicos, formadas por nucleótidos (26). La secuencia del ADN consiste en determinar el orden de las bases A, C, G y T en un fragmento de ADN y permite obtener la secuencia de un fragmento determinado de ADN, un gen o parte de este (27).

La secuencia les informa a los científicos la clase de información genética que se transporta en un segmento específico de ADN. Por ejemplo, los científicos pueden usar la información de las

secuencias para determinar qué tramos de ADN contienen genes y qué tramos transportan instrucciones regulatorias, que activan o desactivan genes. Además, y de manera muy importante, los datos de las secuencias pueden resaltar los cambios en un gen que pueden causar enfermedades o en el caso de los virus hay un importante debate científico sobre si son realmente organismos vivos, ya que no son capaces de realizar algunas de las funciones biológicas primordiales. (28)

7.6.GENES DE ACCIÓN INMUNITARIA

Th2: es aquella respuesta inmunitaria tipo 2 humoral se encarga de la eliminación de microorganismos extracelulares y parásitos como helmintos. Favorecen la proliferación de células B y el cambio de isotipo a IgE, además este tipo está asociado con una serie de enfermedades autoinmunes como la hipersensibilidad tipo 1 (29).

Th17: son aquellas células que median las respuestas contra las bacterias extracelulares y hongos. Favorecen la respuesta inflamatoria y el reclutamiento de neutrófilos.

CL5, CL4: catepsina-L5, L4 recombinante enzimas proteolíticas involucradas en la alimentación e invasión del parásito, así como en la evasión inmune (30).

IFN- γ : Es aquel interferón gamma, este gen codifica una citosina soluble que es miembro de la clase de interferón tipo II (31). Este interferón tipo II no comparte receptores con los interferones tipo I y tipo III, su estructura es distinta y su gen está localizado en un cromosoma diferente, aunque sus efectos biológicos son similares (32).

IL-4: denominada interleuquina-4, es una citoquina que ejerce efectos biológicos de tipo antiinflamatorios ya que bloquea la acción de la citoquina IL-1, promueve el establecimiento de una respuesta inmune de tipo humoral estimulando de esta forma el crecimiento y diferenciación de los linfocitos B (33).

IL-10: es aquella citoquina de mayor poder antiinflamatorio ya que disminuye la inflamación mediada por macrófagos y linfocitos T. Posee una acción muy importante de esta interleucina es la supresión de las células Th1, un subtipo de células T que sintetiza citoquinas inflamatorias. Además, esta citoquina cumple un rol importante para diferenciar los linfocitos B, células dendríticas o células endoteliales (34).

IL-13: Es aquella citoquina producida por linfocitos T, cuyos efectos biológicos se solapan en gran medida con los de la IL-4. Ambas citoquinas inducen proliferación y diferenciación de linfocitos B, así como cambio de clase a IgE (35). Esta reduce la inflamación al impedir que los macrófagos produzcan citocinas (36).

T CD4: Son aquellas células que constituyen una parte esencial del sistema inmunitario, su función principal es la de activar al propio sistema alertándole de la presencia de patógenos o de una replicación errónea de células humanas, para que pueda hacerles frente y corregir la situación (37).

7.7. INMUNOGLOBULINAS

Son aquellas proteínas vitales que circulan en el torrente sanguíneo y tienen funciones relevantes sobre el equilibrio del sistema inmunitario del organismo. Estas proteínas son sintetizadas por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas, en respuesta a la estimulación por un antígeno, y este actúa como un anticuerpo en defensa protegiendo al organismo.

Las inmunoglobulinas tienen una parte específica del complejo de las células B a nivel de la membrana con moléculas circulantes es decir secreta anticuerpos a través de las células plasmáticas procedentes de la proliferación y diferenciación de células B. algunas inmunoglobulinas en animales son:

- **IgG:** son las inmunoglobulinas más abundantes, esta subclase es la que posee capacidad neutralizante, precipitante de unirse a células NK y a macrófagos y con esto son capaces de atravesar las membranas biológicas. Esta inmunoglobulina tiene una función principal de las defensas mediada por anticuerpos y es la única inmunoglobulina que atraviesa la placenta. (38)
- **IgE:** son aquellas inmunoglobulinas que se asocian fundamentalmente con las reacciones alérgicas en este proceso ocurre la unión de los basófilos en el torrente sanguíneo y los mastocitos en los tejidos, entonces los basófilos con IgE unidos, se encuentran con algún alérgeno dan origen a la liberación de sustancias, como la histamina, que producen inflamación y dañan los tejidos, es decir lo que sucede cuando el sistema inmunológico funciona de manera anormal a los antígenos del medio ambiente y finalmente se encuentra en los pulmones, la piel y las membranas mucosas. (39)
- **IgY:** Son aquellas inmunoglobulinas presentadas en el suero de las aves, diferenciándose de la IgG de los mamíferos, estas son la primera línea de defensa de las crías de las aves cumpliendo un mecanismo natural de protección para fabricar anticuerpos. (40)

7.8. RESPUESTA INMUNITARIA A PARÁSITOS

Los mecanismos inmunológicos desencadenados en las infecciones por parásitos y hongos son variados y complejos, estimulando mecanismos de defensa mediados por anticuerpos y por células. La efectividad de la respuesta depende de: Tipo de parásito, estadio evolutivo. etapa de la infección y localización.

El éxito del parásito se mide, no por los trastornos que le causa a su huésped, sino por su capacidad para adaptarse e integrarse al medio interno de éste. Desde un punto de vista inmunológico, un parásito puede considerarse “triunfador” si se integra al huésped de manera que no se lo considere exógeno (41).

7.9. INMUNIDAD PARASITARIA

La implementación de la inmunidad parasitaria requiere de elementos como (antígenos, anticuerpos, receptores de células T, proteínas de histocompatibilidad, complejos de diferenciación, linfocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, citoquinas) que ejercen funciones promotoras, reguladoras o efectoras. Cuando hablamos de inmunidad parasitaria nos referimos a que el parásito trata de evitar el efecto de las moléculas y células efectoras del sistema inmunitario del hospedero (anticuerpos, citosinas, linfocitos citotóxicos entre otros) y por el otro lado, el hospedero trata de destruir al parásito (42).

7.10. INMUNIDAD HUMORAL

Es uno de los mecanismos principales de defensa contra los microorganismos extracelulares y sus toxinas, además de reconocer a los antígenos, además que los anticuerpos que genera, pueden neutralizar la capacidad de infección de los microorganismos, marcando así a los patógenos para facilitar su eliminación. Esta inmunidad humoral esta mediada por las células B, encargadas de generar anticuerpos específicos en el organismo en el cual se produce una diferenciación en el plasma y en las células memorizadoras que se encuentran de forma libre en diferentes líquidos corporales alcanzando concentraciones altas en la sangre, teniendo la capacidad de fijar antígenos específicos como precipitinas, aglutininas, opsoninas y anticuerpos fijadores del complemento, neutralizantes y citofilos (43).

7.11. INMUNIDAD CELULAR

La inmunidad celular es la respuesta específica en la que intervienen los linfocitos T en la destrucción de los agentes patógenos. Los linfocitos T atacan y destruyen células propias, tumorales o infectadas. El agente patógeno es capturado por las llamadas células presentadoras de antígenos (CPA), generalmente, macrófagos, que degradan esos antígenos. Al degradarlos, pequeños péptidos de las proteínas externas del agente patógeno se unen de forma específica en un surco existente en el MHC del macrófago. El tándem MHC y el péptido de la célula presentadora del antígeno es expuesto en la membrana. Este macrófago activado se moviliza por el torrente sanguíneo hasta encontrar linfocitos, a los que activará (44).

7.12. CENTRO NACIONAL PARA LA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI).

El sitio del NCBI, conformado por un amplio y diverso banco de bases de datos, herramientas y otros medios, posibilita la exploración integral de sus recursos mediante un sistema de recuperación de interfaz única denominado Entrez, The Life Sciences Search Engine, en el cual es posible acceder, tanto a las principales bases de datos de secuencias de proteínas y ADN disponibles como Nucleótido, dbSNP, Proteínas, PubChem Substance, Gene, entre otras como a una gran parte de la mejor literatura biomédica mundial procesada por bases como PubMed-Medline. El NCBI agrupa sus bases de datos esenciales en tres grandes sectores: Literatura Databases, Molecular Databases y Genomas. La información contenida en estas bases de datos comprende: funciones, estructura y localización de los genes, los efectos clínicos de las mutaciones, así como las similitudes entre secuencias y estructuras biológicas (45).

8. PREGUNTAS CIENTIFICAS

- **¿Cómo se relacionan las secuencias codificantes de los genes con la respuesta inmunitaria de parásitos (Trematodos)?**

La secuencia codificante es la que permite leer el código genético de los seres vivos y así hace posible identificar las características y la firma genética del individuo. La secuencia genética al tener estas capacidades permite modificar el código genético de las proteínas que tienen los parásitos trematodos para así eliminarlos o mitigar sus efectos en los animales que son comúnmente infectados por dichos parásitos.

- **¿Cuáles son los parásitos (Trematodos) en los que se han realizado investigaciones para encontrar la secuencia codificante de los genes?**

Dentro de los parásitos trematodos que han sido estudiados para analizar la secuencia codificante de los genes que corresponden a la inmunidad de los animales se encuentran: la fasciola hepática, el *Gastrodiscus aegyptiacus* y el *Opisthorchis felinus*. Siendo la fasciola hepática el parásito trematodo con más estudios realizados.

- **¿Cuál es la secuencia codificante de los genes relacionados con los parásitos (Trematodos) de las diferentes especies animales?**

Se encontró la secuencia codificante de los genes: IFN- γ (bovino, ovino, porcino, equino, felino y de lagomorfos), IL-4 (ovino, equino, canino y de aves (gallina)), IL-10 (aves), IL-13 (aves) y TCD4 (Aves)

9. METODOLOGÍA

9.1. Tipo de Investigación

- **Documentales:** Se recopiló información acudiendo a fuentes previas, como investigaciones, libros, artículos científicos, libros electrónicos, tesis doctorales, base de datos del “Centro Nacional para la Información Biotecnológica” (NCBI), los cuales ayudaron a la elaboración de la base de datos de la secuencia codificante de los genes de los parásitos Trematodos de las distintas especies animales domésticas.

9.2. Métodos

- **Analítico:** Se procedió a la investigación de cada uno de los parásitos trematodos de las especies domésticas, y así poderlos distribuir por especies con la información de su respectivo gen identificado y analizado por el NCBI.

9.3. Técnicas

- **Ficha Bibliográfica:** Este tipo de técnica se utilizó para la respectiva investigación por medio de libros, de los cuales se saca la información más importante para de esta manera recopilarla.
- **Ficha de Información Electrónica:** De igual manera en este trabajo se realizó la investigación por medio de artículos científicos, libros electrónicos, tesis doctorales, base de datos del NCBI, de donde se recopiló la información necesaria, para empezar a armar la base de datos de las secuencias codificantes de los genes de los parásitos Trematodos
- **Tabla de Excel:** la información recopilada fue organizada mediante la ayuda de una tabla de Excel, en donde se distribuyó de manera adecuada esta información para una fácil comprensión e interpretación de los datos.

10. ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS

10.1. Interferón gamma (IFN- γ) en Bovinos

Dentro de los estudios recopilados se identificó que el IFN- γ bovino es un gen candidato de resistencia a las garrapatas, esto se debe a sus efectos inmunoestimuladores e inmunomoduladores. Se encontró que las posiciones 139 y 169 del gen IFN- γ que se ubican en el exón 1 tienen resultados significativos debido a que la posición 139 indica la sustitución de aminoácidos de treonina a isoleucina, que es el cambio de un hidroxilo no aromático, un aminoácido polar e hidrófilo a un aminoácido alifático y no polar. Como la naturaleza de ambos aminoácidos es completamente opuesta, esto es una clara indicación de la naturaleza cambiante del producto proteico final del gen. Mientras que la posición 169 indica la sustitución de aminoácidos de glicina (un alifático, no polar) a valina (un alifático, no polar). Como la naturaleza de ambos aminoácidos es similar, el producto proteico final puede no mostrar mucha desviación de su configuración y función normales. (Maryam J., 2011) (46)

El IFN- γ tiene la facultad de favorecer la transcripción de genes relacionados con actividades inmunomoduladores, antivirales, anti proliferativas y antitumorales. Este gen es capaz de incrementar la actividad citotóxica y fagocítica de los macrófagos, además estimula la expresión de moléculas de mayor histocompatibilidad (MHC) en células dendríticas y diferentes tipos de células que presentan antígenos. De igual forma el IFN- γ tiene la capacidad de aumentar el desarrollo y diferenciación de células T cooperadoras 1 (Th1). Esto hace del IFN- γ un elemento principal en el control de infecciones bacterianas, fúngicas, virales y parasitarias. (Dulce A Mata Espinosa, 2008) (47)

La fasciola hepática es un parasito trematodo que afecta a los bovinos y el IFN- γ permite una respuesta inmunomoduladores a medida que la enfermedad avanza, esto es, en las primeras semanas de contagio se da una producción de IFN- γ como respuesta tipo Th1 y cuando la enfermedad llega a etapas criticas la respuesta cambia a tipo Th2 teniendo una disminución de la producción de IFN- γ e incrementando la producción de IL-4. (Silva-Díaz H., 2015) (48)

Tabla 1. Interferón Gamma en Bovinos

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|----------------------|--------|----------|------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| 5 | 1 de 4 | 139 | MKYTSYFLALLLCGL[L]GFS | células T γ δ + | Ectoparásitos |
| NC_037332.1 | | | GSYGQGQFFRE | y células NK | garrapatas |
| (45624513..45629336) | | 169 | LLCGLLGFSYSGYGQ[Q]FFR | | Fasciola |
| | | | EIENLKEYFNA | | hepática |

Fuente: Maryam J., 2011

10.2. Interferón gamma en Ovinos

Dentro de los estudios recopilados del IFN- γ ovino se identificaron sus características estructurales y funcionales donde se evidenció la asociación existente entre las variaciones de este y la respuesta de inmunidad que se presenta ante el *Haemonchus contortus* (*H. contortus*), la resistencia que se presenta y la susceptibilidad que se da en diferentes condiciones fisiológicas. Se identificó que existe un haplotipo en la localización -641 del gen IFN- γ ubicada en el intrón 3 y un microsatélite 5 que se asocia con el aumento de Huevos Secuenciales Fecales (FEC), y esto determina una mayor susceptibilidad a *H. contortus* en ovejas adultas. Sin embargo, el IFN- γ probablemente puede no ser directamente el responsable de la variación fenotípica en la resistencia a *H. contortus*, pero si tiene vínculo a un Loci de Rasgos Cuantitativos (QTL) con algún efecto sobre este. (Dervishi E., 2011) (49)

El IFN- γ es un gen candidato funcional para la resistencia a los parásitos nematos y trematodos debido a que cumplen un papel importante asociado a su función en la respuesta inmune. Las células T CD4, Th1 y Th2 son, entre otras, las encargadas de la producción de citocinas. Las citocinas creadas por el subconjunto de Th1 incluyen IL-2, IFN- γ , y factor de necrosis tumoral (TNF), mismas que inducen a la inmunidad celular. Las citocinas producidas por el subconjunto Th2 incluyen IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 e IL-13, las cuales tienen las funciones de mediación a las respuestas inmunes e inflamatorias. (Dervishi E., 2011) (49)

Los parásitos intracelulares provocan una respuesta inmunológica del tipo Th1, mientras que los parásitos helmintos producen una respuesta tipo Th2. El IFN- γ es una citocina inmunitaria que se

relaciona con la regularización positiva del grupo de Th1, pero elevados niveles de IFN- γ podrían arriesgar la capacidad del huésped para inhibir una infección por helmintos ocasionado por el cambio en el equilibrio Th1/Th2 al dominio de Th1. (Dervishi E., 2011) (49)

La fasciola hepática es un parásito trematodo que afecta a los ovinos y además estos no son capaces de desarrollar resistencia inmune ante una segunda infección por este parásito después de un contagio primario. (Leva RZ., 2007) (50)

Tabla 2. Interferón Gamma en Ovinos

| Cromosoma | Intrón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencia |
|--|--------|----------|---|---|---|
| 3 NC_040254.1 (162701025..1 62705420) | 3 de 3 | -641 | SSEKLEDFKRLIQIP[...] VDDLQIQRKAINELI | (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, e IL-13), células B | Caracterización estructural y funcional del interferón ovino Gen gamma (IFNG): su papel en la resistencia a nematodos Fasciola hepática |

Fuente: Dervishi E., 2011

10.3. Interferón gamma en Porcinos

Dentro de la información recopilada del IFN- γ en porcinos se identificó que existen ciertos polimorfismos (A269G y A251G) de un solo nucleótido (SNP) que resultan en reemplazos en la proteína madura con las posiciones Q67R y K61R. Estas posiciones permiten codificar la proteína para tener variantes en esta, y que a su vez tienen efecto como variante de proteínas en *Escherichia coli*. Q67R es capaz de reducir la actividad antiviral del IFN- γ puesto que existe un SNP funcional en la región de codificación del interferón. (Hsin Fan Yi., 2007) (51)

Se ha demostrado *in vitro* actividad antiviral de IFN- γ en varios virus porcinos, incluyendo la peste porcina africana (Esparza et al., 1988) (52), el virus de la gastroenteritis transmisible, el virus de la influenza (Horisberger, 1992) (53), y el virus del síndrome respiratorio (PRRSV) (Bautista y

Molitor, 1999; Buddaert et al., 1998) (54), y el virus de la peste porcina clásica (CSFV) (Suradhat et al., 2001) (55). Todos estos virus son virus de ARN que son muy sensibles al mecanismo antiviral del interferón.

El IFN- γ es una citocina pleiotrópica que es producida por los linfocitos T y las células asesinas naturales (NK). Este gen posee actividad antiviral y además regula las respuestas inmunes por medio de sus actividades inmunorreguladoras, que incluyen la mediación de la diferenciación de las células tumorales, la mediación de la expresión de moléculas de complejo de mayor histocompatibilidad, activación de macrófagos/monocitos, el efecto antiproliferativo sobre células normales y tumorales y el cambio de isotipo de inmunoglobulina de las células B. (Hsin Fan Yi., 2007) (51)

El IFN- γ es un gen que es capaz de inhibir el crecimiento del virus de la pseudorrabia (PRV), un virus de ADN, ya que existe dependencia entre la dosificación del IFN- γ y el incremento del PRV. La inhibición del crecimiento, activación de macrófagos / monocitos es otra importante actividad inmunorreguladora de IFN- γ . La estimulación de IFN- γ provoca respuestas en los monocitos periféricos porcinos ya que estos producen óxido nítrico (NO) de manera dependiente a la dosis de excitación. Q67R en conjunto con el péptido de fusión pueden reducir, respectivamente, la actividad antiviral y la actividad de antiproliferación del IFN- γ , con un bajo efecto sobre la creación de NO. Con Q67R se puede reducir considerablemente la actividad antiviral de la proteína IFN- γ , lo cual podría ocasionar una alta susceptibilidad a la infección por virus en caso de existir una enfermedad cuya respuesta inmune conduzca a esta situación. (Hsin Fan Yi., 2007) (51)

El parásito trematodo fasciola hepática afecta a los porcinos en donde el sistema inmunológico de estos está controlado por el balance de citocinas que son secretados los por linfocitos y los macrófagos. Existe una división en base a la función de los linfocitos T en donde IL-1, IL-2 e IFN- γ pertenecen al subgrupo de respuesta Th1 los cuales son estimuladores de la inmunidad de las células. Mientras que en el subgrupo de respuesta Th2 se encuentran IL-4, IL-5 e IL-10 los cuales se encargan de la inmunorregulación y promueven la eosinofilia. Con esta actividad de inmunidad en conjunto con la inmunorregulación se puede producir granos de eosinófilos los cuales tienen efecto parasiticida al ser descargados sobre la membrana de la Fasciola. (Bravo TC., 2005) (56)

Tabla 3. Interferón Gamma en Porcinos

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|--|-------------|-----------------|---|--|---|
| 5 NC_010447.5 (32477906..32482670) | 4 de 4 | 67 | TAATGTAACCTTTTA T[G]TGATGAAAAT GGGT | Producido por células NK, células T y macrófagos. Inhibición del crecimiento, la activación de macrófagos / monocitos es otra actividad inmunorreguladora importante de IFN. | Escherichia coli Fasciola hepática Virus de ARN (peste porcina africana, virus de la gastroenteritis transmisible, virus de la influenza, virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino, y peste porcina clásica). Virus de ADN: Virus de la pseudorrabia |

Fuente: Hsin Fan Yi., 2007

10.4. Interferón gamma en Equinos

Dentro de los estudios recopilados se encontró una correlación entre la hipermetilación del ADN en la región promotora del IFN- γ con la edad de los potros y caballos adultos. Esta relación de metilación se encontró en una región con localización 58. La correlación existente indica que dicha región del IFN- γ juega un papel importante en la regulación de la expresión de IFN- γ en caballos. El grado de metilación del ADN en la región promotora del gen IFN- γ equino (alrededor de 58) afecta la expresión del ARNm del IFN- γ en caballos jóvenes. (Sun L., 2012) (57)

El *Gastrodiscus aegyptiacus* (GA) es un parásito trematodo hermafrodita con huevos ovalados, blanquecinos y operculados que afecta a los equinos. Este parásito se aloja tanto en el intestino delgado como en el intestino grueso de equinos. Las infecciones por estos parásitos suelen ser benignas y tiene como síntomas diarrea, edema, pérdida de peso y bajo rendimiento del hospedador. Actualmente no se dispone de información referente a la actuación de las citocinas de Th1 o Th2 como respuesta ante una infección por GA en equinos en el banco de genes NCBI. (58)

Tabla 4. Interferón Gamma en Equinos

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|---|-------------|-----------------|--|------------------------------|--|
| 6 | 4 de 4 | 58 | ELIKVMNDLSPKAN L[R]KRKRSQNPFRG RRA | células T, T linfocitos | Gastrodiscus aegyptiacus Escherichia coli |
| NC_009149.3 (84510150..84513295, complement) | | | | | |

Fuente: Sun L., 2012

10.5. Interferón gamma en Felinos

Dentro de los estudios recopilados del IFN- γ felino se encontró una relación significativa ente la peritonitis infecciosa felina (FIP), una enfermedad inmuno mediada y muy letal causada por la infección por coronavirus felino (FCoV), debido a que los gatos enfermos muestran a menudo un decremento significativo de producción de IFN- γ . (En Hsieh Li., 2014) (59)

El IFN- γ es una citoquina reguladora crucial en la inmunidad mediada por células (CMI) y es indispensable para controlar los patógenos intracelulares. Cuando se presenta una infección por FCoV resulta en una disminución de la producción de IFN- γ y esto se presenta de igual forma en los gatos con FIP según múltiples estudios (Kiss I., 2004) (60).

Hay SNP asociados con FIP los cuales se encuentran en la región del intrón 1. En esta región existen SNP en las posiciones -183 y -155 que influyen sobre la unión del factor de transcripción activador-1 y el sitio de células T relacionado con el factor nuclear (Barbulescu K., 1997) (61). En la posición 874 existe un numero de repeticiones de microsatélite de CA estrechamente asociado con el SNP que influye en la producción de IFN- γ ya que altera la actividad de unión del factor nuclear potenciador de la cadena de kappalight de las células B activadas (Pravica V., 2000) (62). De igual forma existe una correlación de la respuesta del IFN- γ y el genotipo en la posición 428. El alelo T resistente en la posición 428 puede tener la capacidad de servir como una pieza fundamental en el mejoramiento de la producción de IFN- γ en infecciones de patógenos intracelulares. (En Hsieh Li., 2014) (59)

El parasito *Opisthorchis felineus* (duela del hígado de gatos) es un tremado que afecta a los felinos (poco casual en perros). Este parasito se hospeda en los conductos hepáticos, biliares y pancreáticos

del hospedador causando enteritis y diarrea, así como daños en el páncreas e hígado del gato, sin embargo es raro que se presenten casos críticos, y lo común es que la infección se desarrolle sin la presencia de síntomas. En la actualidad no existen estudios relacionados con citocinas que ayuden a producir una respuesta inmunológica que inhiba la actividad e infección de *Opisthorchis felineus* en el banco de genes NCBI. (Junquera. P., 2017) (63)

Tabla 5. *Interferón Gamma en Felinos*

| Cromosoma | Intrón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|--|--------|----------|---|--|---|
| B4 NC_018729.3 (95329479..95334070, complement) | 1 de 3 | -155 | CQAMFFKEIEELKG YF[...]NASNPDVAD GGSLF | Células B, células T asociado al factor nuclear, IgG | Peritonitis Infecciosa Felina, Virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficiencia felina Opisthorchis felineus |

Fuente: En Hsieh Li., 2014

10.6. Interferón gamma en Lagomorfos

Dentro de la información recopilada sobre el gen IFN- γ de lagomorfos no se encontró un estudio específico que investigue este gen dentro de los lagomorfos, más si un estudio general que incluye a breve rasgos al IFN- γ en donde se encontró la secuencia analizada en la investigación (TGTCACTCTCCTCTTTCCAATTCC) misma que apunta a la posición -173 que se encuentra en el exón 1 de 4 del gen IFN- γ .(NCBI., 2020) (64)

El parásito trematodo fasciola hepática también afecta a los lagomorfos, especialmente a conejos en los cuales provoca lesiones cirróticas del hígado, variaciones degenerativas y fibrosis de los canalículos. Al igual que en las demás especies el IFN- γ presenta variaciones como respuesta inmunitaria a medida que la infección avanza. (Alcaíno. H., 2009)(65)

Tabla 6. *Interferón Gamma en Lagomorfos*

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|-----------|------|----------|------------------------|-----------------------|-----------------------------------|
|-----------|------|----------|------------------------|-----------------------|-----------------------------------|

| | | | | |
|---|----------------|--|--|---|
| 4 NC_013672.1 (47129947..47 134880, complement) | 1 de 4 -173 | LAFQLCLILGSYGC Y[C]QDTLTRETEHL KAY | Th1, Th2, IL-12, señalización de Th17 particularmente en células epiteliales, enriquecimiento de citosinas relacionadas con IL-4 | Trichuris suis ova Fasciola hepática |
|---|----------------|--|--|---|

Fuente: NCBI., 2020

10.7. Interferón gamma en Camélidos Sudamericanos

Actualmente no existe información documentada en la base de datos de NCBI correspondiente al IFN- γ en camélidos sudamericanos, únicamente se encontró el cromosoma del gen.(NCBI., 2020) (64)

Tabla 7. *Interferón Gamma en Camélidos Sudamericanos*

| Cromosoma | | |
|--|-------------|----------|
| 12 | Unlocalized | Scaffold |
| NW_021964178.1 (16139166..16144574, complement) | | |

Fuente: NCBI., 2020

10.8. Interleucina 4 (IL-4) en Ovinos

Dentro de los estudios recopilados de la IL-4 ovina (OvIL-4) se encontró que esta pertenece a una clase de citosinas helicoidales alfa que incluye IL-2, IL-7, IL-9, IL-13 e IL-15. Estas citosinas comparten una cadena g del receptor IL-2 común y de varias citosinas en esta familia que reacciona de forma cruzada entre humanos y rumiantes, entonces hay probabilidades de que la OvIL-4 tenga una estructura similar a la IL-4 humana (HuIL-4). Existen varios restos de cisteína relacionados con enlaces disulfuro en HuIL-4 que se encuentra bastante conservados en OvIL-4, tales como la cisteína 3 y la cisteína 111 que unen el terminal N y el terminal C, y la cisteína 46 y 81 que unen la hélice B con el bucle CD. (Collins, R., 1994) (66)

OvIL-4 expresa actividad en *Escherichia coli* (E. coli) puesto que provoca que la proteína recombinante de 13 kDa se inactive. Esto induce a la proliferación de células B y T activas, lo que

conlleva a que OvIL-4 puede desempeñar un papel importante en la generación de respuestas inmunes en ovejas. OvIL-4 tiene un efecto leve en la proliferación de células T en reposo y, además tiene la facultad de inhibir la capacidad de las células T para responder a una estimulación mitógena, lo que indica el efecto regulador de OvIL-4 sobre las células T que dependan de una etapa de activación. En la comparación de las secuencias de aminoácidos en diferentes especies (ovino, bovino y humano) se observó que todas las especies conservan un sitio potencia de N-glicosilación en aa 38 (con numeración ovina) y existe un segundo sitio potencial y exclusivo para OvIL-4 en la posición 72 del gen.(Chaplin P., 2012) (67)

Tabla 8. Interleucina 4 en Ovinos

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|---|--------|----------|------------------------|--|--|
| 5 NC_040256.1 (20199654..20 207472, complement) | 4 de 4 | 72 | LERLKTIMKEKYSK C[] | linfocitos neutrófilos (helmintos). IgG e IgE. | TH2, IgG e Haemonchus contortus (Nematodo), Heligmosomoides polygyrus (Nematodo), Trichuris muris Fasciola hepática |

Fuente: Chaplin P., 2012

10.9. Interleucina 4 en Equinos

Dentro de los estudios recopilados del IL-4 equino se encontró que existe una reactividad cruzada del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) de equinos con las células TF-1 humanas. Esta reactividad cruzada de GM-CSF se puede dar debido a una conservación de la proteína en las regiones 21-31 y 78-94. La IL-4 equina es específica de la especie y no tiene reacciones cruzadas con la IL-4 humana, pero se identificó que la glicosilación no solo es importante para la bioactividad de la IL-4, sino también para la generación de anticuerpos monoclonales (mAbs). (Steinbach F., 2005) (68)

Tabla 9. Interleucina 4 en Equinos

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|--|--------|----------|------------------------------|---|---|
| 14 NC_009157.3 (42204072..42212060, complement) | 4 de 4 | 21 | KSTLKDFLERLKTI M[K]EKYSKC | Células dendríticas, células de Kupffer, macrófagos | Clonación molecular para células mieloides Fasciola hepática |

Fuente: Steinbach F., 2005

10.10. Interleucina 4 en caninos

Dentro de la información recopilado de la IL-4 canina se encontró analogías entre la IL-4 canina y la IL-4 humana. Se encontró que existen posibles regiones de glicosilación ligados a N presentes en la IL-4 canica, de estos sitios en la posición 62-64 se conserva una similitud en todas las especies. Hay sitios de glicosilación en las posiciones 28-30, 45-47, 83-85 y 95-99 que se conservan únicamente entre la IL-4 canina y felina. De igual forma existe un sitio de glicosilación extra en la posición 101-103 de la secuencia canina. (Tanvir S., 2009) (69)

Tabla 10. *Interleucina 4 en Caninos*

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|---|--------|----------|------------------------|--|-----------------------------------|
| 11 NC_051815.1 (21758633..21767487) | 1 de 4 | 63 | [M]GLTSQLIPLVCL L | linfocitos T activados y los mastocitos | Escherichia coli |

Fuente: Tanvir S., 2009

10.11. Interleucina 4 en Aves

Dentro de los estudios recopilados se encontró que el gen IL-4 en aves es estimulado y su producción es potenciada por el estrés por frio (CS). La exposición a CS en aves permite mejorar los niveles de ARNm de IL-4. De igual forma se encontró que la inmunización con adyuvante completo de Freund (CFA) suprime en buena medida el nivel de ARNm de citosina de IL-4. La respuesta de Th2 se asocia con la liberación de IL-4 e IL-10, mismas que potencian la producción de anticuerpos. El CS permite aumentar la expresión de ARNm para los genes IL-12 (relacionado con Th1) e IL-4 (relacionado con TH2), esto indica que el CS ayuda de para fortalecer el sistema inmune con la creación de antígenos. (Basavarajappa N., 2006) (70)

Tabla 11. Interleucina 4 en Aves

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|---|--------|----------|--|--|-----------------------------------|
| 13 NC_006100.5 (17657776..17659512) | 3 de 4 | -369 | HKNLQGLFLNMRQ LL[N]ASSTSLKAPCP TAA | Citosinas pro inflamatorias, Th1 y Th2 citoquinas. | Estrés por frio |

Fuente: Basavarajappa N., 2006

10.12. Interleucina 10 (IL-10) en Aves

Dentro de la información recopilada del gen IL-10 en aves (chIL-10) se encontró que este puede inhibir la actuación de interferón (IFN) de los esplenocitos que son estimulados por mitógenos a nivel de ARNm y proteínas. El promotor de chIL-10 y otros sitios de unión del factor de transcripción se encuentran dentro de este. Existe una relación entre la estimulación mitógena de las células B y la IL-10, puesto que estas células al ser estimuladas por mitógenos tienden a anular la expresión de IL-10.

Los parásitos del genero *Eimeria* pueden afectar a aves en general, pero es en la especie *Gallus gallus* (pollos, gallinas) de carne y reproducción en donde existe una mayor afectación económica. En aves susceptibles a infección por *Eimeria* (infectadas) el intestino delgado de estas tiende a incrementar el nivel de IL-10 hasta tal punto de mitigar el efecto protector del IFN lo que conlleva a que en las aves infectadas el sistema inmune carezca de capacidad para limitar el crecimiento del parásito.

IL-10 es un gen que tiene un papel importante en el control del equilibrio de Th1-Th2 y en fenotipos resistentes o susceptibles al momento de existir una infección por algún tipo de parásito protozoo y debido a esto IL-10 puede ayudar o afectar la respuesta inmunológica del hospedador ante una infección de tipo parasitaria. Debido a esto el gen IL-10 es esencial para el control de producción de algún tipo de Th durante una infección por *Eimeria* y así regular las respuestas de IFN que son de suma importancia para mitigar la infección por este parásito. (Rothwel L., 2004) (71)

Tabla 12 Interleucina 10 en Aves

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|--|-------------|-----------------|--|--|--|
| 26 NC_006113.5 (2562703..2567283, complement) | 3 de 4 | 786 | QTSTSHQQSMGDLG N[M]LLGLKATMRR CHRF | Th1, Th2, citosinas luminales intestinales, quimiocinas, células T, macrófagos y células dendríticas | Caracterización del primer grupo de genes de citosinas T2 de no mamíferos: el grupo contiene genes funcionales de copia única para IL- 3, IL-4, IL-13 |

Fuente: Rothwel L., 2004

10.13. Interleucina 13 en Aves

En el banco de genes de NCBI actualmente no existe una amplia recopilación de información concerniente con el gen IL-13 en aves, más si un estudio relacionado con la caracterización del primer grupo de genes de citocinas T2 de no mamíferos. En este estudio se examina superficialmente, entre otros genes, a la IL-13 teniendo como referencia de estudio la secuencia CACCCAGGGCATCCAGAA que apunta al exón 1 de 4 y con localización inicial de 104. (Avery S., 2004) (72)

Tabla 13. Interleucina 13 en Aves

| Cromosoma | Exón | Posición | Secuencia de Proteínas | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidencio |
|---|-------------|-----------------|---|---|---|
| 13 NC_006100.5 (17651727..17653397) | 1 de 4 | 104 | STPLAMNLSKL KLSDIITQGIQ KLNRGVQVP | IgY, células B activadas por mitógenos, impulsan reacciones de gusanos antihelmínticos y reacciones alérgicas y promueven anticuerpos. | Caracterización del primer grupo de genes de citosinas T2 de no mamíferos: el grupo contiene genes funcionales de copia única para IL-3, IL-4, IL-13 |

Fuente: Avery S., 2004

10.14. T CD4 en Aves

Dentro de los estudios recopilados sobre el gen CD4 en aves se encontró que el promotor de CD4 de pollos tienen ubicaciones potenciales de unión al factor de transcripción, mismas que son cruciales en la actividad transcripcional de CD4. Este promotor se encuentra en un sitio con alto potencial para factor de transcripción Myb en la posición -151 del primer intrón del gen CD4. Además, existe una secuencia AGGAGG correspondiente al sitio de unión consenso de la proteína de zinc asociada a Myc (MAZ) a exactamente tres nucleótidos de distancia de la localización del sitio potencial para Myb. (Koskinen R., 2002) (73)

Tabla 14. T CD4 en Aves

| Cromosoma | Intrón | Posición | Secuencia de mRNA | Relación de inmunidad | Patología con la que se evidenció |
|---|--------|----------|-----------------------------------|---|-------------------------------------|
| 1 | 1 de 9 | -151 | GAAACACAGA | β 2-microglobulin | Enfermedad |
| NC_006088.5 (77874435..77 885902) | | | GGGAGG[...]AA AAGAGGTTTG CA | GAPDH (gliceraldehído fosfato deshidrogenasa) inflamatorias de manera análogo a los mamíferos. También tienen menos mastocitos y basófilos que los mamíferos. | infecciosa de la Bursa (Gumboro) |

Fuente: Koskinen R., 2002

11. IMPACTO

11.1. Impacto técnico

El impacto de esta investigación es de tipo Técnico, porque a través de la revisión bibliográfica se obtuvo una base de datos más completa que permitirá a Biotecnólogos encargados de la elaboración de vacunas, tener información disponible de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad en los parásitos Trematodos que afectan a las distintas especies animales e impulsar a realizar las respectivas vacunas de ADN.

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1. CONCLUSIONES

- Al analizar los genes que se relacionan con la inmunidad en las diferentes especies animales tratadas en el presente proyecto de investigación se identificó que los genes IFN- γ e IL-4 son los que más presentes están en las respuestas inmunes, inmunomoduladoras e inmunorreguladoras ante infecciones por parásitos trematodos en donde el IFN- γ corresponde a una respuesta de tipo Th1 y el gen IL-4 corresponde a una respuesta tipo Th2, y además en la mayoría de infecciones el IFN- γ es el primero en reaccionar en el sistema del hospedador, esto es, se produce un incremento de este gen (respuesta tipo Th1) y a medida que la infección avanza se produce una disminución del IFN- γ e incremento del IL-4, cambiando así a una respuesta tipo Th2. Lo que implica que debe haber un equilibrio de la producción de estos genes en el sistema inmune del hospedador debido a que una sobreproducción de un gen u otro puede en ocasiones ayudar a que la infección crezca y ocasionar condiciones críticas en los animales infectados.
- De los genes investigados se encontró información completa de IFNG, IL-4, IL-10, IL-13 y TCD4 para las diferentes especies tratadas en el presente proyecto de investigación, mismos de los que se elaboró una base de datos en la cual se identifica que los genes IFNG (bobino, porcino, equino y lagomorfos), IL-4 (ovino, equino, canino y de aves), IL-10 (aves), IL-13 (aves) y TCD4 (aves) el efecto de respuesta inmune se encuentra localizado dentro de los exones de cada gen, mientras que para el resto de los genes el efecto de respuesta inmune se localizó en los intrones.
- Se identificó que los genes IFNG (bovino, porcino, equino y lagomorfos), IL-4 (ovino, equino, canino y de aves), IL-10 (aves), IL-13 (aves) y TCD4 (aves) son posibles candidatos para la elaboración de vacunas de ADN debido a que en estos genes se encontró que la información relacionada con la respuesta inmune y mutaciones o modificaciones de los genes se localiza en los exones de estos y a su vez esta información genética puede llegar hasta el ARM mensajero maduro y de esta manera modificar las proteínas para así ayudar a fortalecer la respuesta inmune de los animales.

12.2. RECOMENDACIONES

- Existe poca información de los genes que se relacionan con la inmunidad ante parásitos trematodos en los diferentes animales, especialmente en los que no son utilizados para consumo masivo o explotación a gran escala, por lo cual es recomendable realizar investigaciones a nivel genético para aportar con información referente a la inmunidad en especies animales como lagomorfos, camélidos sudamericanos, cobayos y caprinos.
- A partir de la base de datos desarrollada en este proyecto de investigación se debe estudiar cómo afecta una modificación en la cadena genética de la localización específica de los exones que se relacionan con la inmunidad para cada gen candidato que se encontró y así elaborar vacunas de ADN que aporten a fortalecer la inmunidad de los animales ante infecciones por parásitos trematodos.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. National Center for Biotechnology Information. NCBI. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
2. Bello JR. Implicaciones funcionales de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes codificantes de proteínas. PERMANYER. 2017 Mar; 238-50(153).
3. Martínez A. Proteínas y péptidos en nutrición enteral. Nutricion Hospitalaria. 2016; ISSN 0212-1611(21).
4. Ellen SP. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción. Instituto de Promoción de la carne vacuna Argentina. 2012; ISBN 978-987-27689-0-4(CDD 636.295).
5. Margulies E. National Human Genome Research Institute. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 14]. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Exon#:~:text=Un%20ex%C3%B3n%20es%20la%20porci%C3%B3n,secuencias%20de%20ADN%20llamadas%20intrones.>
6. Lunaschi LI. Capitulo 4 - Clase Trematoda. In Hyman LH. Los Invertebrados. Mexico; 2016. p. 45-50.
7. Junquera P. PARASITIPEDIA.net - Parásitos del Ganado, Caballos, Perros y Gatos: Biología y Control. [Online].; 2017 [cited 2020 Diciembre 12. Available from: https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=145.
8. ULP. PLATELMINTOS. Generalidades y clasificacion. Trematodos Digeneos. Caracteristicas generales. [Online].; 2017 [cited 2020 Diciembre 12. Available from: http://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/48/48207/leccion_11_0607.pdf.
9. Gianantonio C. ¿Qué son las vacunas y cómo funcionan? [Online].; 2021 [cited 2021 Enero 12. Available from: <https://www.huesped.org.ar/informacion/vacunas/que-son-y-como-funcionan/>.
10. Criado T. Vacunologia clasica y nuevas tecnologias en el diseño de vacunas. Enfermedades Infecciosas Microbiologia Clinica. 2008 Agosto; 26(9).
11. Novartis. Vacunología inversa. [Online].; 2013 [cited 2020 Diciembre 14. Available from: https://mcmpediatria.org/sites/default/files/sitefiles/archivos/2013_18_reunion_spmycm_vacunologia_inversa.pdf.
12. Aguilar S. Las vacunas génicas (ADN): ¿Pueden sustituir a las convencionales para el control de la rabia? Mediagraphic. [Online].; 2008 [cited 2021 Enero 25. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/bioquimia/bq-2008/bq084c.pdf>.
13. G SA. Vacunas de ADN: una nueva y promisoría manera de inducir inmunidad protectora. Actual Biol. 2001 95-106; 74(23).
14. Sánchez JM. Vacunas de ADN: inducción de la respuesta inmunitaria. SCIELO. 2009 Enero; 51(supl.3).

15. SPITZ M. Vacunas de ADN desnudo. Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU). 2010 639-644; 60(5/2).
16. Curtis H. Septima. Marcelo T. de Alvear, editor. Madrid España. [Online].; 2008 [cited 2020 11 14. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=mGadUVpdTLsC&pg=PA207&dq=gen+signifihttps://books.google.com.ec/books?id=mGadUVpdTLsC&pg=PA207&dq=gen+signifi>.
17. Zapata XS. Aprender A Aprender- GEN Y GENOMA. [Online].; 2009 [cited 2020 11 14. Available from: http://computo.ceiich.unam.mx/webceiich/docs/libro/Gen_y_genoma.pdf.
18. Mundo Genetica. BASES MOLECULARES DE LA HERENCIA. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://mundogenetica.jimdofree.com/tem%C3%A1ticas/1-bases-moleculares-de-la-herencia/1-2-estructura-y-partes-de-un-gen/>.
19. Olazabal NL. Genetica-Splicing Exones e Intrones. [Online].; 2018-2019 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: http://bioinformatica.uab.cat/base/documents/genetica_gen/portfolio/SPLICING-EXONES%20E%20INTRONES2019_4_29P13_10_53.pdf.
20. Elliott Margulies PD. National Human Genome Research Institute. [Online].; 2020 [cited 2021 Enero 10. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Exon#:~:text=Las%20partes%20de%20la%20secuencia,o%20interfieren%20con%2D%20los%20exones>.
21. National Human Genome Research Institute. Intron. [Online].; 2020. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Intron>.
22. Greenwood M. Intrones y Exones. [Online].; Noviembre 2018. Available from: [https://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-introns-and-exons-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/What-are-introns-and-exons-(Spanish).aspx).
23. Más BL. Clonaje y caracterización de una nueva forma soluble de TNFR2 producida por splicing alternativo. Estudio de su implicación en patologías asociadas a inflamación. [Online].; 2008. Available from: https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2989/TESIS_BEGONA_LAINEZ.pdf?sequence=1.
24. Creative Commons Atribución-CompartirIgual. GEN. [Online].; 2011 [cited 2020 11 14. Available from: <http://enciclopedia.us.es/index.php/Gen>.
25. reguladores Degey. BCCRWP. [Online].; 22-01-2020 [cited 2020 11 14. Available from: <https://es.bccrwp.org/compare/difference-between-structural-and-regulatory-genes/>.
26. Ministerio de ciencia e innovacion. SECUENCIACIÓN GENÉTICA: ¿QUÉ ES Y PARA QUÉ SIRVE? [Online].; 2020 [cited 2020 11 15. Available from: <https://www.conprueba.es/secuenciacion-genetica-que-es-y-para-que-sirve>.
27. Maritza Angarita Merchán MITC. Molecular Biology Techniques for research development. A literature review. Revista Habanera de Ciencias Médicas. 2017 Septiembre-Octubre; 16(5).

28. Sanidad Md. SECUENCIACIÓN GENÉTICA: ¿QUÉ ES Y PARA QUÉ SIRVE? [Online].; 2020 [cited 2021 Enero 25. Available from: <https://www.conprueba.es/secuenciacion-genetica-que-es-y-para-que-sirve>.
29. Sanchez MEM. Dinámica de la diferenciación de células TH : modelación con redes booleanas Biomedicas Idli, editor. Mexico, D.F: UNAM; 2011.
30. Carmona ICyC. Especificidad de sustrato de la catepsina L3 secretada por el estadio juvenil de Fasciola hepatica. [Online].; 2013 [cited 2020 11 15. Available from: <https://docplayer.es/14229208-Especificidad-de-sustrato-de-la-catepsina-l3-secretada-por-el-estadio-juvenil-de-fasciola-hepatica.html>.
31. NCBI. Genetics. IFNG Gene. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 15. Available from: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/IFNG>.
32. Dulce A Mata-Espinosa RHP. Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. RINCÓN DEL RESIDENTE-RIC. 2008 Septiembre-Octubre; 60(5).
33. OTERO LC. CITOQUINAS: DE FIELES ALIADAS A TEMIBLES ENEMIGAS. DialNet. 2011 Diciembre; 24(1).
34. Herati R. La interleuquina 10 y su función en el organismo. [Online].; 19-Enero-2017 [cited 2020 Noviembre 15. Available from: <https://www.misistemaimune.es/la-interleuquina-10-y-su-funcion-en-el-organismo/>.
35. Clínica Universidad de Navarra. Interleuquina-13 (IL-13)-Diccionario Médico. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/interleuquina-13>.
36. Instituto Nacional del Cáncer. IL-13. [Online].; 2019 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/il-13>.
37. El equipo de gTt-Grupo de trabajo sobre tratamientos del VIH. T CD4. [Online].; Febrero de 2017 [cited 2020 Noviembre 15. Available from: http://gtt-vih.org/aprende/informacion_basica_sobre_el_vih/que_son_los_cd4.
38. Chacana P. Una introducción a la tecnología IgY, anticuerpos de yema de huevo. [Online].; 2012 [cited 2021 Enero 12. Available from: <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/una-introduccion-tecnologia-igy-t29860.htm#:~:text=Por%20esta%20raz%C3%B3n%2C%20su%20peso,et%20al.%2C%202001>.
39. Cozar FG. Inmunoglobulinas. In Aguado E. Inmunología. España: Piramide; 2008. p. 63-79.
40. Research Gate. Aplicaciones de tecnología de las inmunoglobulinas de yema de huevo (IgY) de gallina. [Online].; 2010 [cited 2021 Enero 25. Available from: https://www.researchgate.net/publication/280984316_Aplicaciones_de_tecnologia_de_las_inmunoglobulinas_de_yema_de_huevo_IgY_de_gallina.

41. Departamento de Parasitología y Micología C.E.F.A. INMUNOLOGÍA DE LAS PARASITOSIS. [Online].; 2019 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: <http://www.higiene.edu.uy/parasito/teo09/inmunop.pdf>.
42. Tizard IR. Introducción a la inmunología veterinaria. 8th ed. Madrid: Capitulo 5; <https://books.google.com.ec/books?id=YwgSSo4ml8gC&printsec=frontcover&dq=inm>.
43. Erns SMVMVSPS,DMVM,vFM. Archivos de Medicina Veterinaria. [Online]. Available from: https://books.google.com.ec/books?id=cDS_eQTCupUC&pg=PA83&dq=inmunidad+h#v=onepage&q=inmunidad%20h&f=false.
44. Ministerio de educacion y ciencia. Inmunidad Celular. [Online].; 2018 [cited 2020 Noviembre 15. Available from: <http://servicios.educarm.es/cnice/biosfera/datos/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos9.htm>.
45. Rubén Cañedo Andalia RRL. Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los Estados Unidos: un palacio de la información para la medicina molecular. SCIELO. 2019 Abril; 19(4).
46. Maryam J,BME,NA,&HT. Las variantes genéticas en el gen del interferón gamma (IFN- γ) están asociadas. Molecular Biology Reports. 2011 Septiembre; 4(39).
47. Dulce A Mata Espinosa RHP. Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. RINCÓN DEL RESIDENTE/ Revista de Investigación Clínica. 2008 Septiembre- Octubre; 60(5).
48. Silva-Díaz H. Inmunidad Celular en Ganado Vacuno Lechero Naturalmente Infeccionado con Fasciola hepatica. Revista Investigativa Veterinaria. 2015 Mayo; 26(4).
49. E. Dervishi a JUJVJHC. Caracterización estructural y funcional del interferón ovino. Veterinary Immunology and Immunopathology. 2011 Febrero; 1-2(141).
50. Leva RZ. Estudio Histopatologico e Inmunohistoquimico del Hígado y ganglios linfaticos hepaticos en cabras inmunizadas frente a Dasciola Hepatica Veterinaria Fd, editor. Cordoba: UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA; 2007.
51. Yi HF. Un polimorfismo de sentido erróneo en el ADNc del interferón γ porcino afecta la actividad antiviral de la variante proteica. Molecular Immunology. 2007 Julio; 44(13).
52. Esparza I,GJC,VE. Efecto del interferón alfa,interferón-gamma y factor de necrosis tumoral en el virus de la peste porcina africana. Virologia. 1988; 69.
53. Horisberger MA. Efectos específicos del virus del porcino recombinante. In Interferón-gamma y la inducción de proteínas Mx en células de cerdo.; 1992. p. 439–444.
54. Bautista EM,MTW. IFN gamma inhibe la reproducción porcina y replicación del virus del síndrome respiratorio en macrófagos. In Virologia. 140; 1999. p. 1191–1200.

55. Suradhat S,IM,DS. La correlación de la producción de interferón-gamma específico del virus y la protección contra infección por el virus de la peste porcina clásica. In.: *Molecular Immunology*; 2001. p. 177–189.
56. Bravo TC. Fasciolosis: revisión clínico-epidemiológica actualizada. *Rev Mex Patol Clin*. 2005 Abril - Junio; 52(2).
57. Sun L. La región promotora de interferón-gamma está hipermetilada en potros recién nacidos y su desmetilación está asociada con una mayor expresión génica. *Inmunología del desarrollo y comparativa*. 2013 Marzo; 39(3).
58. MERCADO E. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en caballos (*Equus caballus*) pertenecientes a la Subdirección de la unidad de montados, caninos y grupos de apoyo al medio ambiente Toluca, Mexico: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO; Enero, 2018.
59. Chueh LEHaLL. Identificación y genotipificación de polimorfismos de un solo nucleótido asociados a peritonitis infecciosa felina en el gen del interferón γ felino. *Investigación veterinaria de Hsieh y Chueh*. 2014 Mayo; 1(57).
60. Kiss I PAPN. Resultado de la enfermedad y respuestas de citocinas en gatos inmunizados con un virus avirulento de la peritonitis infecciosa felina(FIPV). *Med-Surg*. 2004; 6.
61. Barbulescu K MzBKNM. Interacciones proteína / ADN constitutivas e inducibles del promotor de interferón-gamma in vivo en subconjuntos de ayudantes CD45RA y CD45R0 T. *Eur J Immunology*. 1997; 27.
62. Pravica V PCSALJHI. Un polimorfismo de un solo nucleótido en el primer intrón del gen IFN-gamma humano: correlación absoluta con un marcador de microsatélites CA polimórfico de alta producción de IFN-gamma. *Biología Humana*. 2000; 61.
63. Junquera P. OPISTHORCHIS FELINEUS, la duela del hígado de los GATOS: biología, prevención y control. [Online].; 30 Diciembre 2017 [cited 2021 Enero 26. Available from: https://parasitopedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=1483&Itemid=1617#:~:text=Opisthorchis%20felineus%20es%20una%20especie,tambi%C3%A9n%20a%20los%20seres%20humanos.
64. NCBI. Centro Nacional de Información Biotecnológica. [Online].; 2020 [cited 2021 Enero 10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=IFN+vicug%C3%Bl>.
65. Alcaíno H. Algunos antecedentes sobre la fascioliasis animal y humana. *Monografías de Medicina Veterinaria*. 2009 Julio; 11(1).
66. COLLINS RA,THK,GKI,BP,CEA. Clonación y expresión de interleucina-2 bovina y porcina en baculovirus y análisis de reactividad entre especies.. *Veterinario. Immunol. Immunopathol.* 2004; 40(313–324).

67. PAUL J. CHAPLIN GCRDRGSBPRW. La expresión y los efectos biológicos de la interleucina-4 ovina sobre la proliferación de células T y B. REVISTA DE INVESTIGACIÓN SOBRE INTERFERÓN Y CITOQUINA. 2012 Julio; 20(4).
68. Falko Steinbach. RS,SI. Clonación molecular y caracterización de marcadores y citocinas para células mieloides de équidos. Inmunología e inmunopatología veterinaria. 2005 18 de Octubre; 108(1-2).
69. Tanvir S. Khatlani KO,ZM. Clonación de un ADNc de longitud completa que codifica la interleucina 4 canina. Revista de Ciencia Medica Veterinaria J STAGE. 2009 Abril; 61(8).
70. Hangalapura BN. Cold stress equally enhances in vivo pro-inflammatory cytokine gene expression in chicken lines divergently. Developmental and Comparative Immunology. 2006 Agosto; 30(5).
71. Rothwell L. Cloning and Characterization of Chicken IL-10 and Its Role in the Immune Response to Eimeria maxima. The Journal of Immunology. 2004; 173(4).
72. Avery S. Characterization of the First Nonmammalian T2 Cytokine Gene Cluster: The Cluster Contains Functional Single-Copy Genes for IL-3, IL-4, IL-13. JOURNAL OF INTERFERON & CYTOKINE RESEARCH. 2004; 24(10).
73. Koskinen R. The chicken CD4 gene has remained conserved in evolution. Immunogenetics. 2002 August; 54(7).
74. ALCAINO PPM. EFECTO DE INTERLEUQUINA-3 (IL-3) SOBRE EL TRANSPORTE DE GLUCOSA, PARTICIPACION DE LAS VIAS DE SEÑALIZACION JAK2, PI3K/Akt y MAPK. [Online].; 2007. Available from: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fcm976e/doc/fcm976e.pdf>.
75. Carracedo RMM. SlideShare IL 5 Y IL6. [Online].; 2012. Available from: <https://es.slideshare.net/roosemontero/il-5-y-6>.
76. Gallart MT. Interleuquinas y su papel en las respuestas inmunes. BIOTECNOLOGIA DL APLICACIÓN FARMACEUTICA. 2018 Enero; 1(<https://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136632.pdf>).
77. Gallart MT. Aspectos generales de la biología de las citoquinas. In Inmunología Sd. Interleuquinas y su papel en las respuestas inmunes. Barcelona; 2018. p. 59-60.
78. Kaplan RGyMH. The Journal of Immunology- IL-9. [Online].; 15-Marzo-2011. Available from: <https://www.jimmunol.org/content/186/6/3283>.
79. Ruth Rodríguez-Montaña MdCLE. El rol del IFN- γ , IL-12, IL-18. REVISTA MEXICANA DE PERIODONTOLOGIA. 2015; VI(1).
80. Wissinger E. Células T CD8+. Bitesized Immunology. 2019; 1(14).
81. José Manuel Frago GVA. El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) en las enfermedades autoinmunes (EA). Gaceta Médica de México.. 2014; 334-44(150).

82. Casellas i Jordà F. Mi Sistema Inmune- FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA, NECESIDAD DE EQUILIBRIO. [Online].; 2017. Available from: <https://www.misistemainmune.es/factor-de-necrosis-tumoral-alfa-necesidad-de-equilibrio/>.

ANEXOS

Anexo 1. AVAL DE TRADUCCIÓN



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por la señorita Egresada de la Carrera de **MEDICINA VETERINARIA** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES; RUIZ MERA MARÍA BELÉN**, cuyo título versa “**ANÁLISIS DE LAS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA A LOS PARÁSITOS TREMATODOS**”, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la peticionaria hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, febrero del 2021

Atentamente,

Mg. BOLÍVAR MAXIMILIANO CEVALLOS GALARZA
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0910821669

1803027935 Firmado digitalmente por
5 VICTOR 1803027935
HUGO VICTOR HUGO
ROMERO ROMERO GARCIA
GARCIA Fecha: 2021.03.02
13:15:41 -05'00'

Anexo 2. HOJA DE VIDA DEL TUTOR

HOJA DE VIDA

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

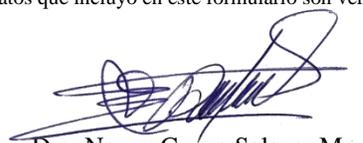
| | | | |
|--|------------------------------------|--|--------------------------|
| Nombre: | CUEVA | SALAZAR | NANCY MARGOTH |
| | <small>Apellido Paterno</small> | <small>Apellido Materno</small> | <small>Nombres</small> |
| Lugar y fecha de Nacimiento: | Latacunga 29 de septiembre de 1967 | | |
| Edad: | 50 años | Género: | Femenino |
| Nacionalidad: | Ecuatoriana | Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros): | |
| Dirección Domiciliaria: | Cotopaxi | Latacunga | La Matriz |
| | <small>Provincia</small> | <small>Cantón</small> | <small>Parroquia</small> |
| Av. Roosevelt y Junin | <small>Dirección</small> | | |
| Teléfono(s): | 023810621 | 0998300152 | |
| | <small>Convencionales</small> | <small>Celular o Móvil</small> | |
| Correo electrónico: | nancy.cueva@utc.edu.ec | Cédula de Identidad o Pasaporte: 0501616353 | |
| Tipo de sangre: | B+ | Estado Civil: Casada | |
| Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS: | | | |

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

(Si es necesario, incluya más filas en la siguiente tabla)

| Nivel de Instrucción | Nombre de la Institución Educativa | Título Obtenido | Número de Registro SENESCYT | Lugar (País y ciudad) |
|----------------------|-------------------------------------|--|-----------------------------|-----------------------|
| Tercer Nivel | Universidad Técnica de Cotopaxi | Doctora en Medicina Veterinaria | 1020-05-576456 | Ecuador |
| Cuarto Nivel | Universidad Agraria del Ecuador | Magister en Clínica y Cirugía de Caninos | 1018-14-86054207 | Ecuador |
| Cuarto Nivel | Universidad Tecnológica Equinoccial | Educación y Desarrollo Social | 1032-15-86057434 | Ecuador |

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.


Dra. Nancy Cueva Salazar Mg.

Firma del Tutor o estudiante

Anexo 3. HOJA DE VIDA DEL ESTUDIANTE

HOJA DE VIDA

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

| | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|--|-------------|
| Nombre: | RUIZ | MERA | MARIA BELEN |
| | Apellido Paterno | Apellido Materno | Nombres |
| Lugar y fecha de Nacimiento: | Quito 6 de abril de 1996 | | |
| Edad: | 24 años | Género: | Femenino |
| Nacionalidad: | Ecuatoriana | Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros): | |
| Dirección Domiciliaria: | Imbabura | Ibarra | El Retorno |
| | Provincia | Cantón | Parroquia |
| Teléfono(s): | 0982539618 | | |
| | Convencionales | Celular o Móvil | |
| Correo electrónico: | maria.ruiz4342@utc.edu.ec | Cédula de Identidad o Pasaporte: 1003954342 | |
| Tipo de sangre: | O+ | Estado Civil: Soltera | |

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

(Si es necesario, incluya más filas en la siguiente tabla)

| Nivel de Instrucción | Nombre de la Institución Educativa | Título Obtenido | Número de Registro SENESCYT | Lugar (País y ciudad) |
|----------------------|------------------------------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------|
| Bachillerato | U.E. Temporal Ibarra | Químico Biológicas | 59030 | Ecuador |

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.



Firma del estudiante

Anexo 4. BASE DE DATOS DE GENES DE PARÁSITOS TREMATODOS

| Gen | Especie Animal | Localización De Gen/Cromosoma | Exones | Intrones | Secuencia Proteínas | Inmunidad Relacionada | Patología | Referencia |
|---------------|----------------------------|--|---|---------------------------------------|--|--|---|-------------------|
| IFN- γ | BOVINOS(bos taurus) | Cromosoma 5 NC_037332.1 (45624513..45629336) | Exón 1 de 4 Localización 139 169 | | MKYTSYFLALLLCL[L]GFSGSYGQGQFFRE/LLCGLLGFSGSYGQG[Q]FFREIENLKEYFNA | linfocitos T $\gamma\delta$ + y células NK | Ectoparásitos garrapatas | Maryam J., 2012 |
| IFN- γ | OVINOS (ovis aries) | Cromosoma 3 NC_040254.1 (162701025..162705420) | | Intron 3 de 3 Localizaciones: -641 | SSEKLEDFKRLIQIP[...]VDDLQIQRKAINELI | (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, e IL-13) células B | Caracterización estructural y funcional del interferón ovino | Dervishi E., 2011 |
| IL4 | | Cromosoma 5 NC_040256.1 (20199654..20207472, complement) | Exón 4 de 4 Localización : 72 | | LLERLKTIMKEKYSK[C] | linfocitos TH2, neutrófilos (helminos). IgG e IgE. | <i>Haemonchus contortus</i> , <i>Heligmosomoides polygyrus</i> , <i>Trichuris muris</i> | Chaplin P., 2012 |

| | | | | | | | | |
|---------------|--|--|-------------------------------------|--|--|---|---|---------------------------|
| IFN- γ | PORCINO (<i>Sus scrofa ssp</i>) | Cromosoma 5 NC_010447.5 (32477906..32482670, complement) | Exon 4 de 4 Localizacion : 67 | | mRNA sequence: TAATGTAAC TTTAT[G]TGATGAAAATGGG T | Producido por células NK, células T y macrófagos. Inhibición del crecimiento, la activación de macrófagos / monocitos es otra actividad inmunorregula da importante de IFN. | Actividad antiviral sobre: Virus de ARN (peste porcina africana, virus de la gastroenteritis transmisible, virus de la influenza, virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino)Virus de ADN:Virus de la pseudorrabia | Hsin Fan Yi., 2007 |
| IL4 | EQUINO (<i>Equus caballus</i>) | Cromosoma 14 NC_009157.3 (42204072..42212060, complement) | Exón 4 de 4 Localización 21 | | KSTLKDFLERLKTIM[K]EKYSKC | celulas dendriticas, células de Kupffer, macrofagos | Clonación molecular para células mieloides | Steinbac h F., 2005 |
| IFN- γ | | Cromosoma 6 NC_009149.3 (84510150..84513295, complement) | Exón 4 de 4 Localizacion 44 | | MNDLSPKANLRKRKR[S]QNPFRGRRALQ | células T, T CD4 linfocitos | <i>Escherichia coli</i> | Sun L., 2012 |
| IL4 | CANINO (<i>Canis lupus familiaris</i>) | Cromosoma 11 NC_051815.1 (21758633..21767487) | Exón 1 de 4 Localización : 63 | | [M]GLTSQLIPTLVCLL | linfocitos T activados y los mastocitos | <i>Escherichia coli</i> | Tanvir S., 2009 |
| IFN- γ | FELINO (Felis silvestris catus) | Cromosoma B4 NC_018729.3 (95329479..95334070, complement) | | Intron 1 de 3 Localizaci ones: -155 | CQAMFFKEIEELKGYF [...] NASNPDVADGGSL F | celulas B, células T asociado al factor nuclear | Peritonitis Infecciosa Felina, Virus de la leucemia felina, virus de la inmunodeficie ncia felina | En Hsieh Li., 2014 |

| | | | | | | | | |
|---------------|--|---|---------------------------------------|--|--|--|---|-------------------------|
| IFN- γ | LAGOMORF O | Cromosoma 4 NC_013672.1 (47129947..47134880, complement) | Exón 1 de 4 Localización : -173 | | LAFQLCLILGSYGCY[C]QDTLTRETEHLKAY | Th1, Th2, IL-12, señalización de Th17 particularmente en células epiteliales, enriquecimiento de citocinas relacionadas con IL-4 | <i>Trichuris suis ova</i> (nematodo) | Leonardi I., 2014 |
| IFN- γ | CAMELIDOS SUDAMERICANOS (Vicugna pacos) | Cromosoma 12 Unlocalized Scaffold NW_021964178.1 (16139166..16144574, complement) | | | | | | NCBI., 2020 |
| IL4 | AVES (gallinas / pato) | Cromosoma 13 NC_006100.5 (17657776..17659512) | Exón 3 de 4 Localización : -369 | | HKNLQGLFLNMRQLL[N]ASSTSLKAPCPTAA | Citocinas proinflamatorias, Th1 y Th2 citoquinas. | Estrés por frío | Basavara jappa N., 2006 |
| IL10 | | Cromosoma 26 NC_006113.5 (2562703..2567283, complement) | Exón 3 de 4 Localización : 786 | | QTSTSHQQSMGDLGN[M]LLGLKATMRRCHR F | Th1, Th2, citocinas luminales intestinales, quimiocinas, células T, macrófagos y células dendríticas | <i>Eimeria-coccidiosis; E. tenella; E. maxima</i> | Rothwell L., 2004 |

| | | | | | | | | |
|-------|------------------------|---|-----------------------------------|-------------------------------------|---|--|--|-------------------|
| IL13 | AVES (gallinas / pato) | Cromosoma 13 NC_006100.5 (17651727..17653397) | Exón 1 de 4 Localización : 104 | | STPLAMNLSKLLSD[I] JTQGIQKLNRGVQVP | IgY, células B activadas por mitógenos, impulsan reacciones de gusanos antihelmínticos y reacciones alérgicas y promueven anticuerpos. | Caracterización del primer grupo de genes de citocinas T2 de no mamíferos: el grupo contiene genes funcionales de copia única para IL-3, IL-4, IL-13 | Avery S., 2004 |
| T CD4 | | Cromosoma 1 NC_006088.5 (77874435..77885902) | | Intron 1 de 9 Localización: -151 | mRNA sequence: GAAACACAGAGGGA GG[...]AAAAGAGGTTT GCA | β2-microglobulin GAPDH (gliceraldehído fosfato deshidrogenasa) | Enfermedad infecciosa de la Bursa (Gumboro) | Koskinen R., 2002 |

Anexo 5. RESULTADOS CUANTITATIVOS

| GEN | ESPECIE ANIMAL | CONSULTADO | ENCONTRADOS | LOCALIZADOS EN EXON | LOCALIZADOS EN INTRON |
|--------------|---|------------|-------------|---------------------|-----------------------|
| IFN-y | BOVINOS (bos taurus) | 1 | 1 | 1 | 0 |
| CL5 | | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IFN-y | OVINOS (ovis aries) | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Th 17 | | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IL4 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Th2 | CAPRINO (Capra aegagrus hircus) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| CL5 | | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Th2 | PORCINO (Sus scrofa ssp) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IFN-y | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Th 17 | EQUINO (Equus caballus) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IL4 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| IFN-y | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Th2 | CANINO (Canis lupus familiaris) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IL4 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Th2 | FELINO (Felis silvestris catus) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IFN-y | | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Th2 | COBAYOS (Cavia porcellus) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Th2 | LAGOMORFOS | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IFN-y | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| Th2 | CAMELIDOS SUDAMERICANOS (Vicugna pacos) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IFN-y | | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Th2 | AVES (gallinas / pato) | 1 | 0 | 0 | 0 |
| IL4 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| IL10 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| IL13 | | 1 | 1 | 1 | 0 |
| T CD4 | | 1 | 1 | 0 | 1 |
| TOTAL | | 26 | 14 | 10 | 3 |

Anexo 6. DIAGRAMAS CON PORCENTAJES

