

ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN CERDOS DE LA PIEDAD, A.C.

# XVII CONGRESO

**NUESTRO MAYOR RESPALDO EN SALUD:  
UNA INMUNIDAD SÓLIDA**



**SALÓN  
LA ESPERANZA**

**19 PRECONGRESO | 20  
20 | 21 CONGRESO | 20  
SEPTIEMBRE | 18**

**INFORMES**

No. Cuenta BANCOMER  
0193636305

No. Cuenta CLABE  
012496001936363056

STAND	\$10,000.00 + IVA
CONGRESISTA	\$ 800.00+IVA
ESTUDIANTE	\$ 600.00+IVA
EL STAND INCLUYE 5 PASES PARA CONGRESISTAS	

MVZ. Evaristo Ramos S.  
469 697 38 25  
acp.eramos@gmail.com

MVZ. Fernando Peña P.  
352 110 32 60  
amveclapiedad@gmail.com

MVZ. Marcos Magaña L.  
352 557 36 61  
marcosml@prodigy.net.mx

# **XVII Congreso de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos de La Piedad.**

**La Piedad, Michoacán**

**20-21 septiembre, 2018**

## **Fundamentos de la Inmunología Veterinaria**

**Miguel A. Márquez**

### **RESÚMEN**

La inmunología es una amplia rama de las ciencias biomédicas que se ocupa del estudio del sistema inmunitario, entendiendo como tal, al conjunto de órganos, tejidos y células que, en los mamíferos y en las aves, tiene como función reconocer elementos extraños o propios dando una respuesta inmunitaria. La Inmunología es la rama de la Biología de mayor crecimiento en los últimos cincuenta años y esta estrechamente relacionada con la Epidemiología y la Infectología. Existen dos mecanismos de protección de los animales y en particular de los mamíferos: los Mecanismos de Resistencia y los Mecanismos Inmunológicos, los cuales permiten vivir y sobrevivir a animales, al cerdo y al hombre. Dichos mecanismos protegen a los animales contra parásitos, bacterias, hongos, virus, venenos externos, endotoxinas, contaminación ambiental, células cancerosas, es decir, contra un medio externo e interno hostil.

I.- Los Sistemas de Resistencia son espontáneos, innatos, e inespecíficos y se dividen en: Mecanismos Anatómo-fisiológicos, bioquímicos y celulares

II.- Asimismo, tenemos los Mecanismos Inmunes, los cuales tienen que ser inducidos por una sustancia extraña, son adquiridos y altamente específicos existiendo una respuesta Inmune Celular y una respuesta Inmune Humoral.

Se hace una detallada descripción y análisis de las bases inmunológicas de la respuesta de defensa de los cerdos.

# **XVII Congreso de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Cerdos de La Piedad**

***“La Inmunidad, base de una  
producción exitosa”***

**La Piedad, Michoacán**

**19-21 septiembre, 2018**

# **Fundamentos de la Inmunología Veterinaria**

**AMVEC LA PIEDAD**

**ELANCO SALUD ANIMAL**

**Miguel A. Márquez**

**20 septiembre, 2018**

## **Objetivo:**

**Hacer una descripción y análisis de las bases inmunológicas de la respuesta de defensa de los cerdos**

**La inmunología es una amplia rama de las ciencias biomédicas que se ocupa del estudio del sistema inmunitario, entendiendo como tal, al conjunto de órganos, tejidos y células que, en los mamíferos y en las aves, tiene como función reconocer elementos extraños o propios dando una respuesta inmunitaria**

# Las guerras interiores

*“Asediado por innumerables enemigos invisibles, el cuerpo animal posee un remarcable y complejo sistema de guardias internos.*

*Ellos son capaces de limpiar el pulmón de partículas extrañas, liberar la corriente sanguínea de microorganismos infecciosos y de destruir células renegadas cancerosas”*

# La Peste Negra. Siglo XVI

*Yersinia pestis*



**Pieter Bruegel, El Viejo**  
**1525-1569**

***“El Triunfo de la Muerte”***

**1556**

**Museo del Prado**

# Pieter Bruegel, El Viejo





毒湧掀腫痘形十六

# Lady Mary Wortley Montague Istanbul, Turquía. 1718



**Asia, África  
Imperio Otomano**

**Introducción de la Variolización**

**(Virus homólogo humano)**

**a Inglaterra**

**por**

**Lady Montague**

**1718**

**(81 años antes que Edward Jenner)**

# Edward Jenner. Padre de la Inmunología.

## 1ª Vacunación niño James Phipps





Sarah Nelmes, a milkmaid infected with cowpox.



James Phipps is inoculated with cowpox pus from Nelmes.



Phipps falls ill with a mild case of cowpox.



Scabs are collected from a smallpox patient.



Phipps is inoculated with the scabs of smallpox.



Phipps is unaffected. Protection is complete.

# “Vacunación” con virus heterólogo de origen bovino. Jenner, 1799



# Pústulas variolosas Sarah Nelmes

## Vaquera





*The Cow Pock... the Wonderful Effects of the New Inoculation... the Publication of J. and J. Hatch, 1802*

FIGURA IV.5. No todos creyeron que el procedimiento de vacunación fuese una maravilla. Este cuadro de 1802 del pintor James Gillray, que estaba contra la vacunación, muestra a personas vacunadas a las que les brotan partes de vaca en los brazos y el cuerpo. (Cortesía de The Wellcome Trust.)



*The Cow-Pock — or — the Wonderful Effects of the New Inoculation! — Side. — the Publications of the Anti-Vaccine Society.*

# Teozáhuatl (Grano de Dios)

Códice Florentino Fray Bernardino de Sahagún



**Francisco Xavier de Balmis  
y Berenguer (1753-1819)  
Médico de Carlos IV**

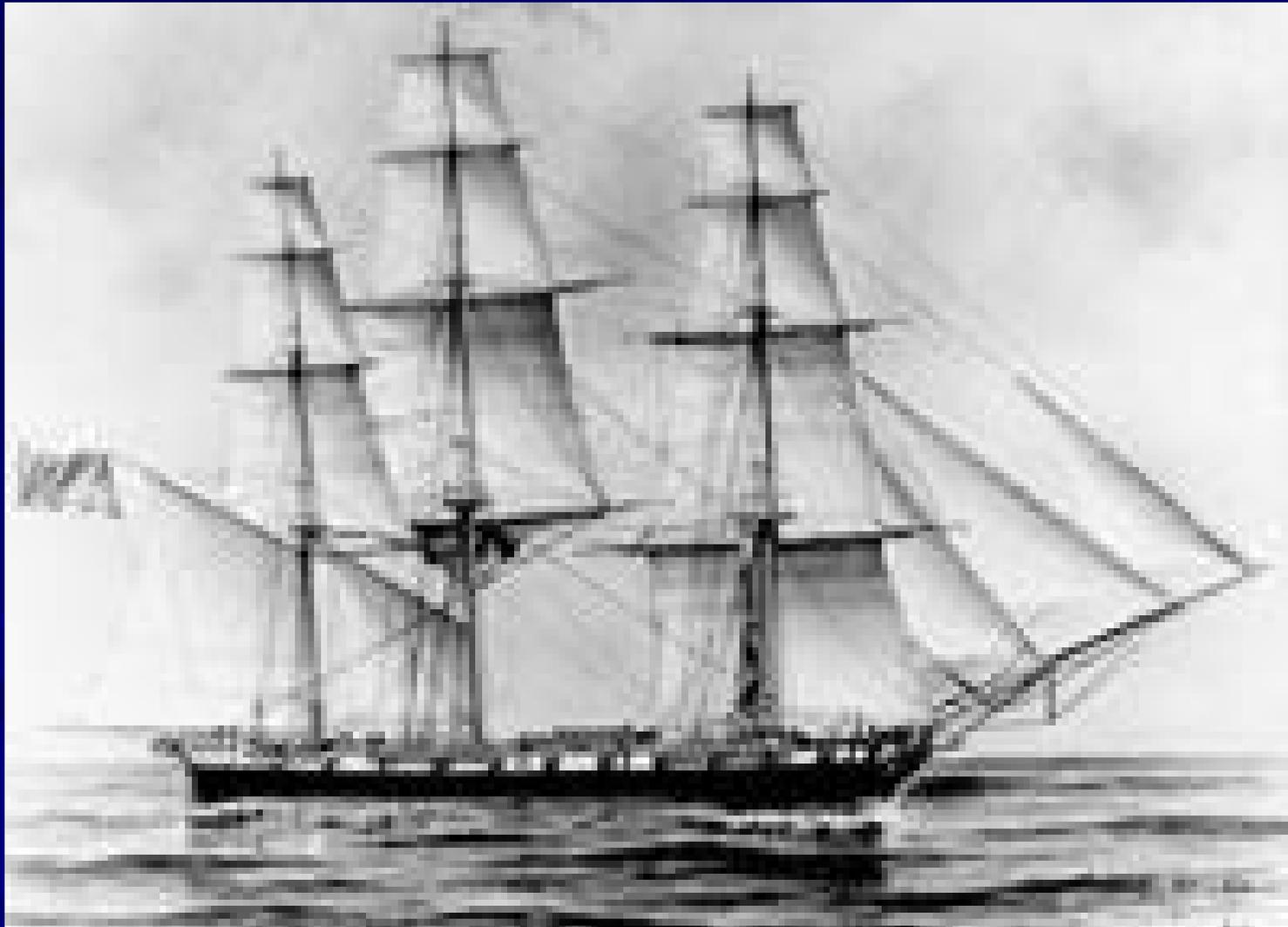
**Real Expedición Filantrópica  
de la Vacuna alrededor del  
Mundo  
(1804-1806)**

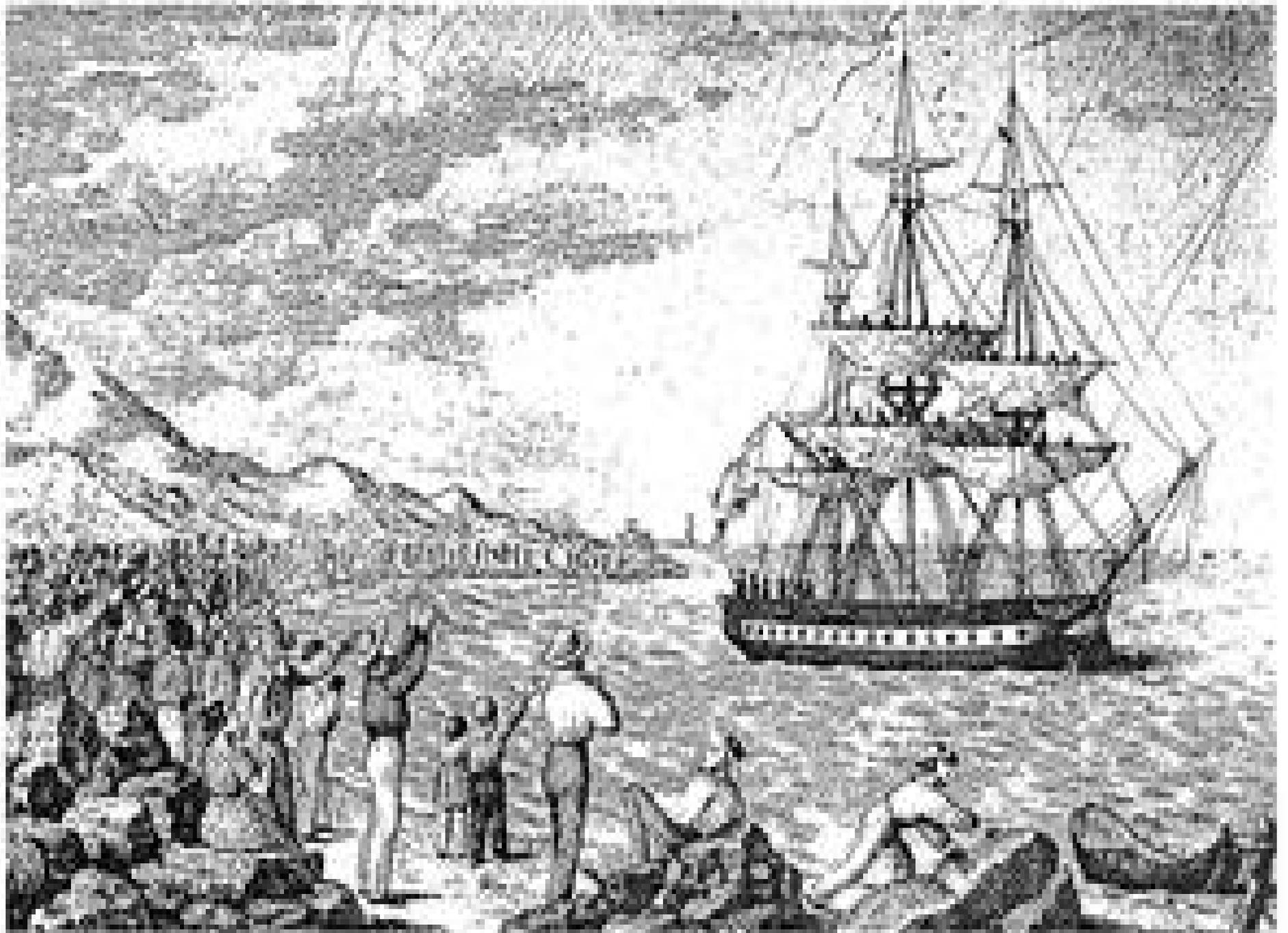
# Francisco Javier de Balmis

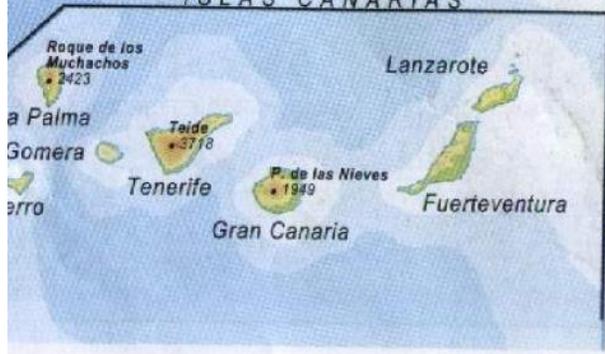
## Universidad de Alicante



**Corbeta María Pita**  
**22 niños de La Coruña, Galicia**  
**30 noviembre, 1803**











«EL MUNDO EN 1789»



# Últimos casos Bangladesh

## Viruela humana erradicada en 1980



## **La Herencia Neandertal: Mejor sistema inmune, pero más alergias**

**Los humanos modernos se cruzaron con la especie que llevaba decenas de miles de años en Europa e incorporó sus mejoras genéticas frente a las enfermedades**



**La Inmunología  
es la rama de la Biología de  
mayor crecimiento en los  
últimos cincuenta años**

**Epidemiología y la Infectología**

# **Mecanismos de Protección de los Animales**

**I.- Mecanismos de Resistencia**

**II.- Mecanismos Inmunológicos**

**¡Vivir y Sobrevivir!**

**Protegen a los animales  
contra parásitos, bacterias,  
hongos, virus, venenos  
externos, endotoxinas,  
contaminación, células  
renegadas cancerosas, etc.**

**Medio externo e interno hostil**

# I.- Sistemas de Resistencia

*Son espontáneos, innatos e inespecíficos!*

- a) **Anatomo-fisiológicos**
- b) **Bioquímicos**
- c) **Celulares**

## **II.- Mecanismos Inmunes**

*Tienen que ser inducidos por una sustancia extraña, son adquiridos y altamente específicos*

- 1.- Respuesta inmune celular**
- 2.- Respuesta inmune humoral**

# **I.- Sistemas de Resistencia**

# **Mecanismos de Resistencia**

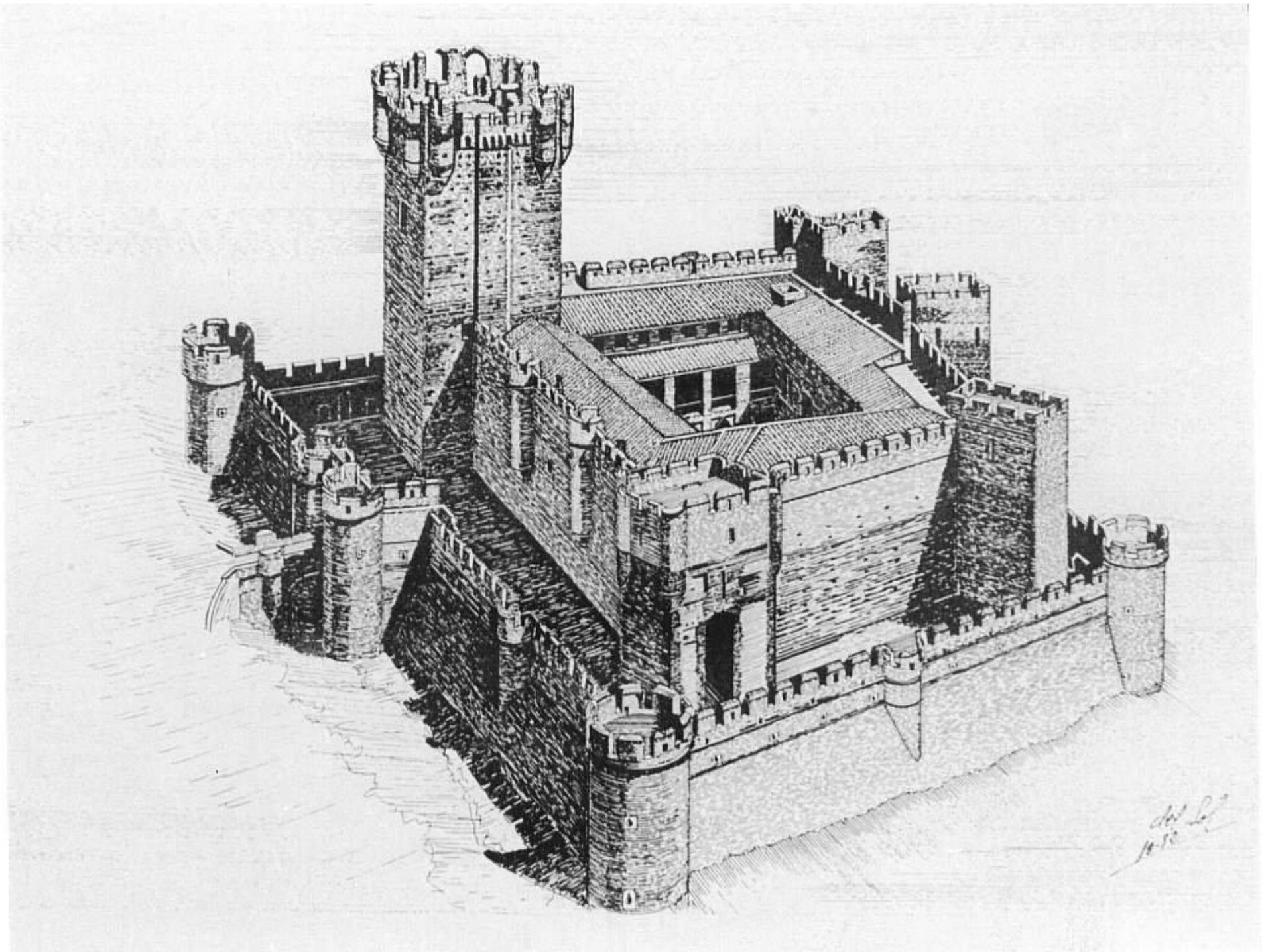
## **a) Anatómo-fisiológicos**

**Piel, escamas y plumas, cabello, vello, pelo axilar, púbico, anal.**

**Mucosas que recubren orificios/conductos de aparatos respiratorio, gastrointestinal, urinario, genital.**

**Conjuntiva ocular, mucosa bucal, nasal, auditiva, cloacal, anal, vaginal, uretral.**

**La piel es una barrera de células especializadas, que impide la entrada de gérmenes patógenos, cubriendo al organismo físicamente en forma semejante a las murallas de una ciudad medieval**



# Conjuntivas y Mucosas

**No son tan resistentes como la piel**

**El ojo es bañado por lágrimas y es  
barrido por los párpados  
(membrana nictitante en aves)**

**El resto mucosas están recubiertas por  
moco que atrapa a los gérmenes y  
sustancias extrañas sólidas, líquidas o  
gaseosas**

# Cilios

**Los movimientos ciliares en perpetuo vaivén, barren los gérmenes y partículas atrapadas en el moco (expectoración). Lágrimas, moco y vellosidades son los fosos que rodean a murallas.**

**El flujo salivar impide implantación de agentes extraños, contiene enzimas como amilasa que hidroliza la membrana de bacterias y la lisozima, poderosa enzima bactericida**

# **Flora Bacteriana**

**Alrededor de los fosos y muros de la ciudad amurallada hay habitantes simbióticos, gérmenes que no toleran la presencia de microorganismos extraños, evitando que colonicen la piel y mucosas.**

**Se trata de bacterias, hongos y levaduras que conviven pacíficamente en piel, boca, faringe, aparato G. I.**

**Boca:** *Streptococcus salivarum*/  
peroxidasas bactericidas

**Intestino:** Fusobacterium,  
clostridios y espiroquetas

**Leche materna/Calostro**

Lactobacillus evitan colonización  
gérmenes patógenos: *E. coli*,  
Salmonellas

**Estómago/Molleja:** pH de 3.0

# **Factores de resistencia mecánicos**

- Turbulencia (cornetes nasales)**
- Estornudo**
- Tos**
- Expectoración**
- Vómitos**
- Movimientos peristálticos**
- Diarrea**

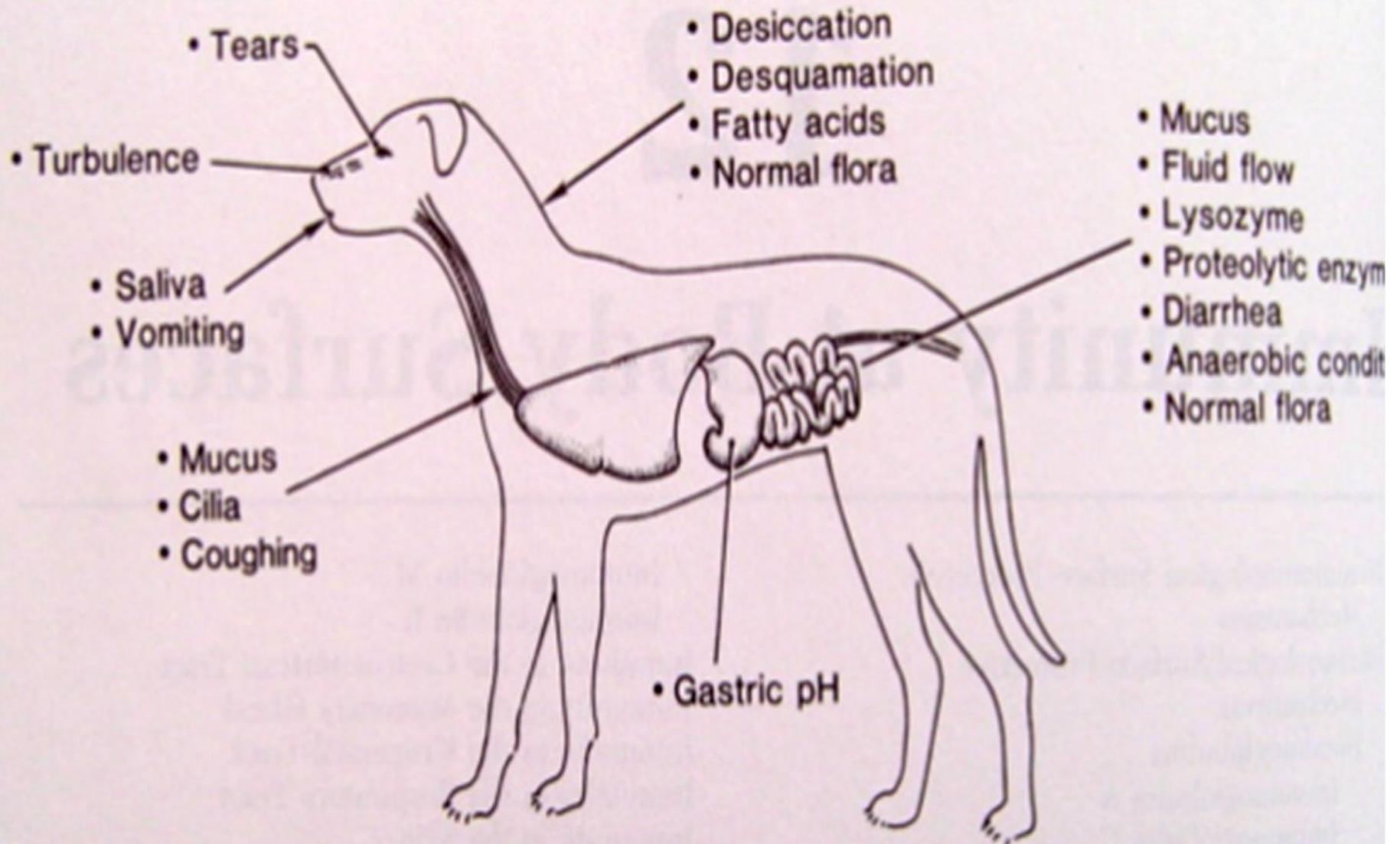


Figure 12-1. The nonimmunological surface protective mechanisms.

## **b) Mecanismos de Resistencia bioquímicos**

**Sustancias que impiden el desarrollo de gérmenes:**

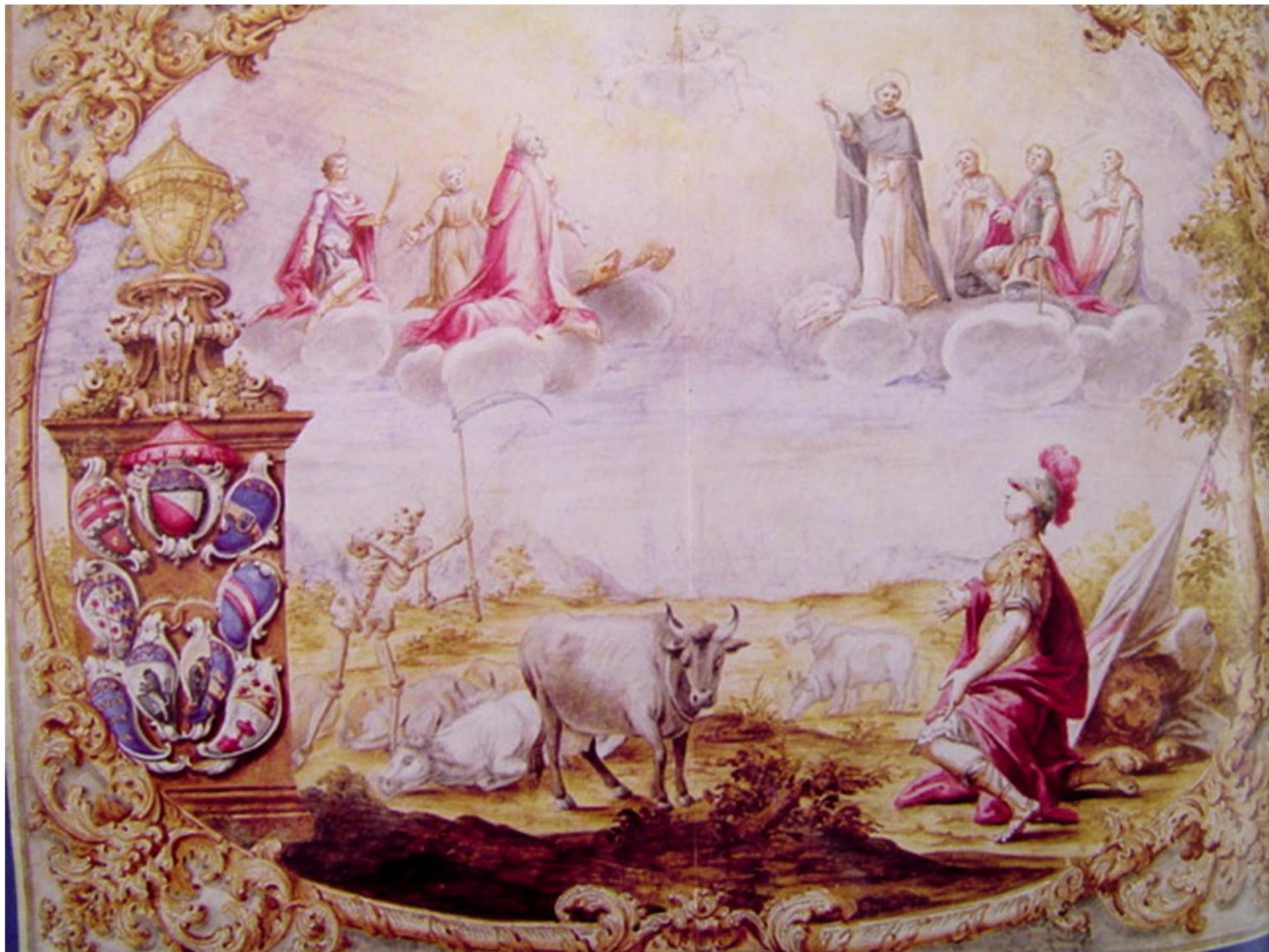
- Enzimas: amilasa, lisozimas**
- Proteínas transportadoras de Hierro**
- Sales biliares**

# **Proteínas transportadoras de Hierro**

**El hierro es un elemento necesario para el desarrollo de un buen número de bacterias:**

## ***E. coli***

**Durante y después de una infección bacteriana hay una caída del hierro plasmático**



## **Sales Biliares**

**¡Poderoso efecto neutralizador!**

**Robert Koch vacunó exitosamente bovinos contra Peste Bovina, con bilis de animales muribundos de P.B.**

**Muy rica en inmunoglobulinas secretorias: IgA**

# Roberto Koch



## **c) Mecanismos celulares de defensa**

- Fagocitosis**
- Inflamación**

# Fagocitosis

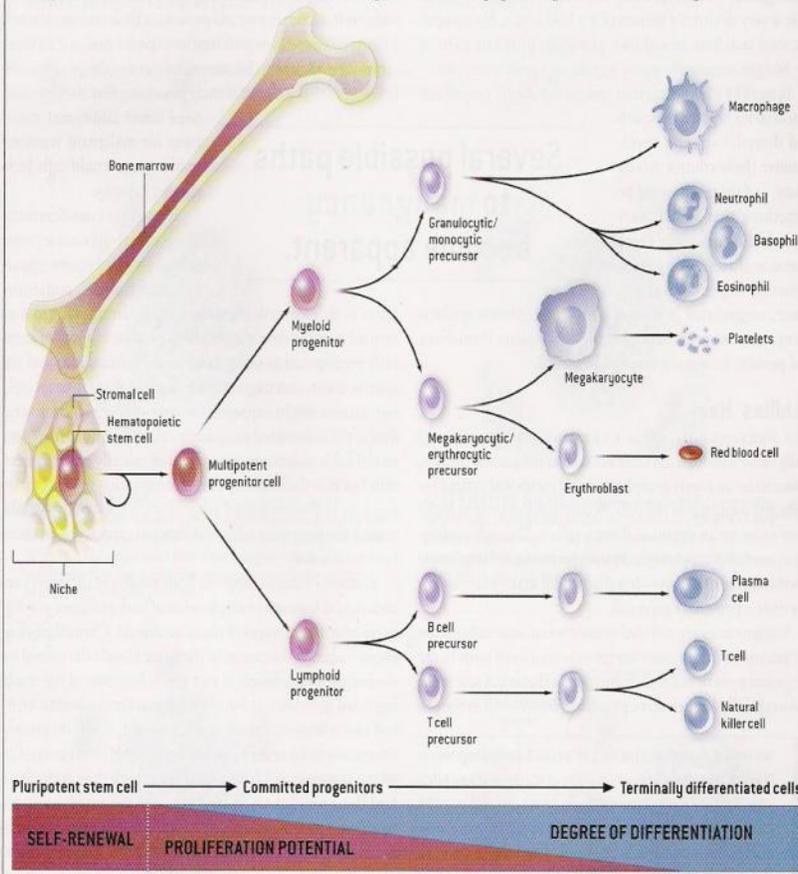
- Proceso consistente en la ingestión de partículas extrañas: bacterias, virus, partículas sólidas vivas/inertes, el cual es llevado a cabo por fagocitos neutrófilos polimorfonucleares.
- El material fagocitado es hidrolizado enzimáticamente por lisozomas
- La fagocitosis es uno de los mecanismos de defensa más importantes → Los macrófagos de la respuesta inmune la continuará y reforzará!

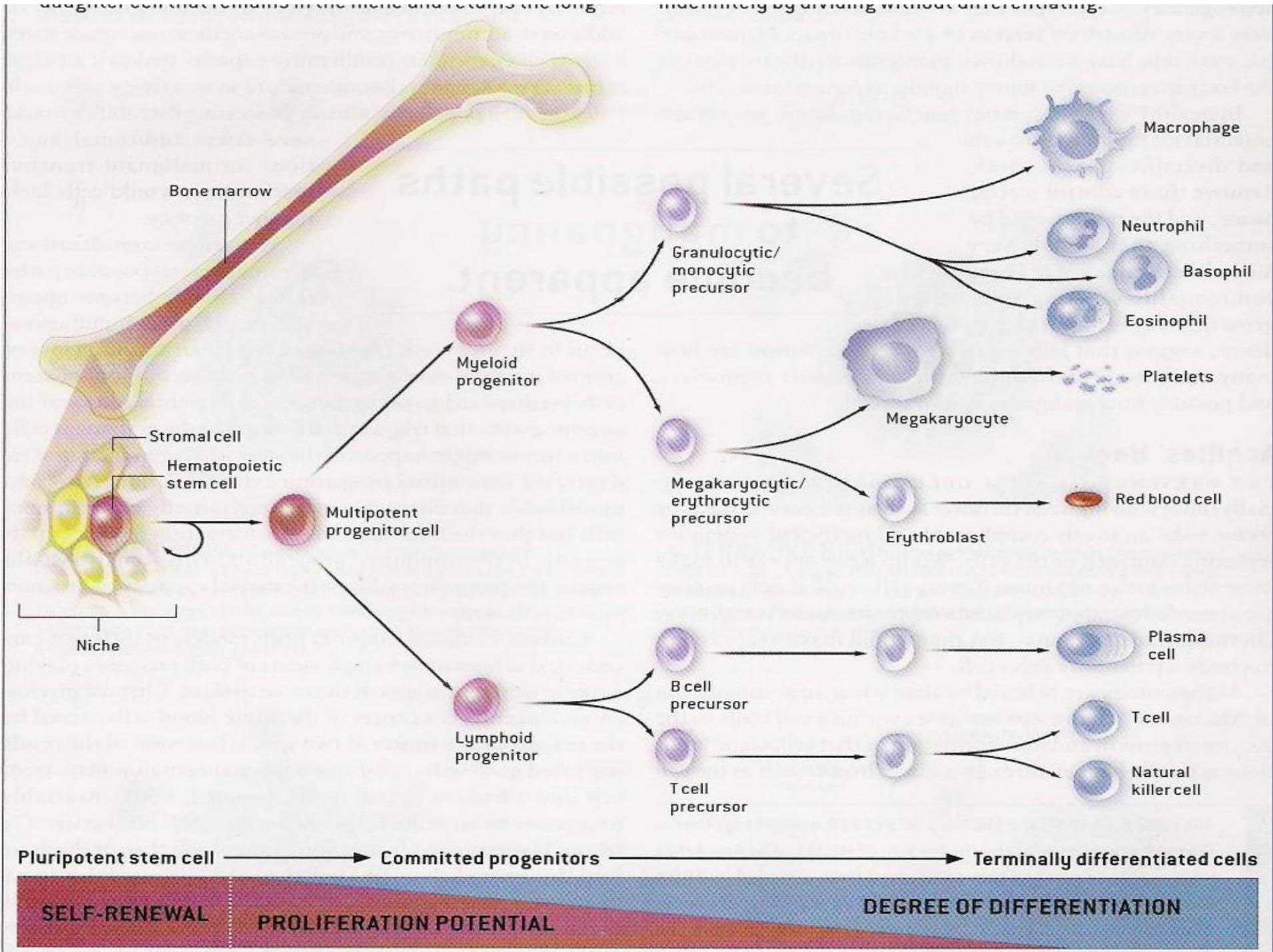
# Células precursoras pluripotenciales de médula ósea

## HIERARCHY IN BLOOD-FORMING CELLS

Stem cells in the blood-forming, or hematopoietic, system illustrate principles governing the activity of stem cells in other tissues as well. A small population of hematopoietic stem cells (HSC) in the bone marrow is the source of most of the different blood and immune cell types that circulate in the human body. HSCs reside in an environmental niche, surrounded by stromal cells that provide important regulatory signals to the stem cell. When new blood or immune cells are needed, an HSC divides to produce one daughter cell that remains in the niche and retains the long-

term HSC identity and another short-lived daughter termed a multipotent progenitor cell (MPP). The MPP, in turn, divides to produce progenitors committed to generating cells in the myeloid (blood) or lymphoid (immune) lineages. As the descendants of progenitors become increasingly specialized they experience a programmed decline in their ability to proliferate until they stop dividing and are said to be terminally differentiated. Only the stem cell retains unlimited proliferative potential through its ability to renew itself indefinitely by dividing without differentiating.





# Fagocitos

¡Barrenderos del cuerpo!



# Leucocitos sanguíneos

**Basófilos:** Fijan colorantes básicos (hematoxilina) 0.5%

**Eosinófilos:** Colorantes ácidos (eosina) 10% Actúan vs parásitos

**Neutrófilos:** No fijan colorantes, 30%

Se forman médula ósea, maduran bazo, migran sangre y tejidos → Fagocitosis, destrucción de microbios, síntesis de histamina, heparina, pirógenos, etc.

# Neutrófilo granulocito polimorfo- nuclear

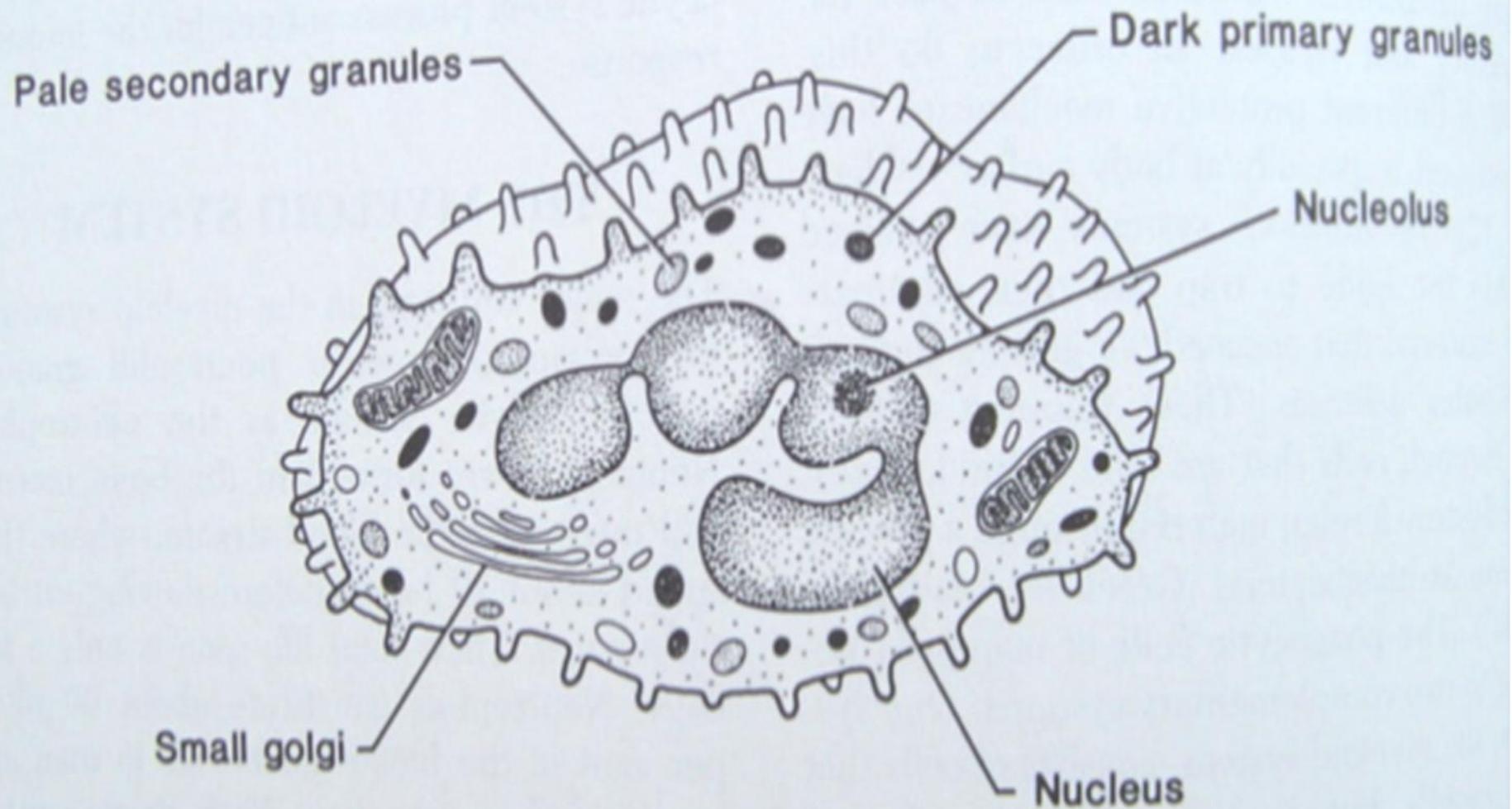
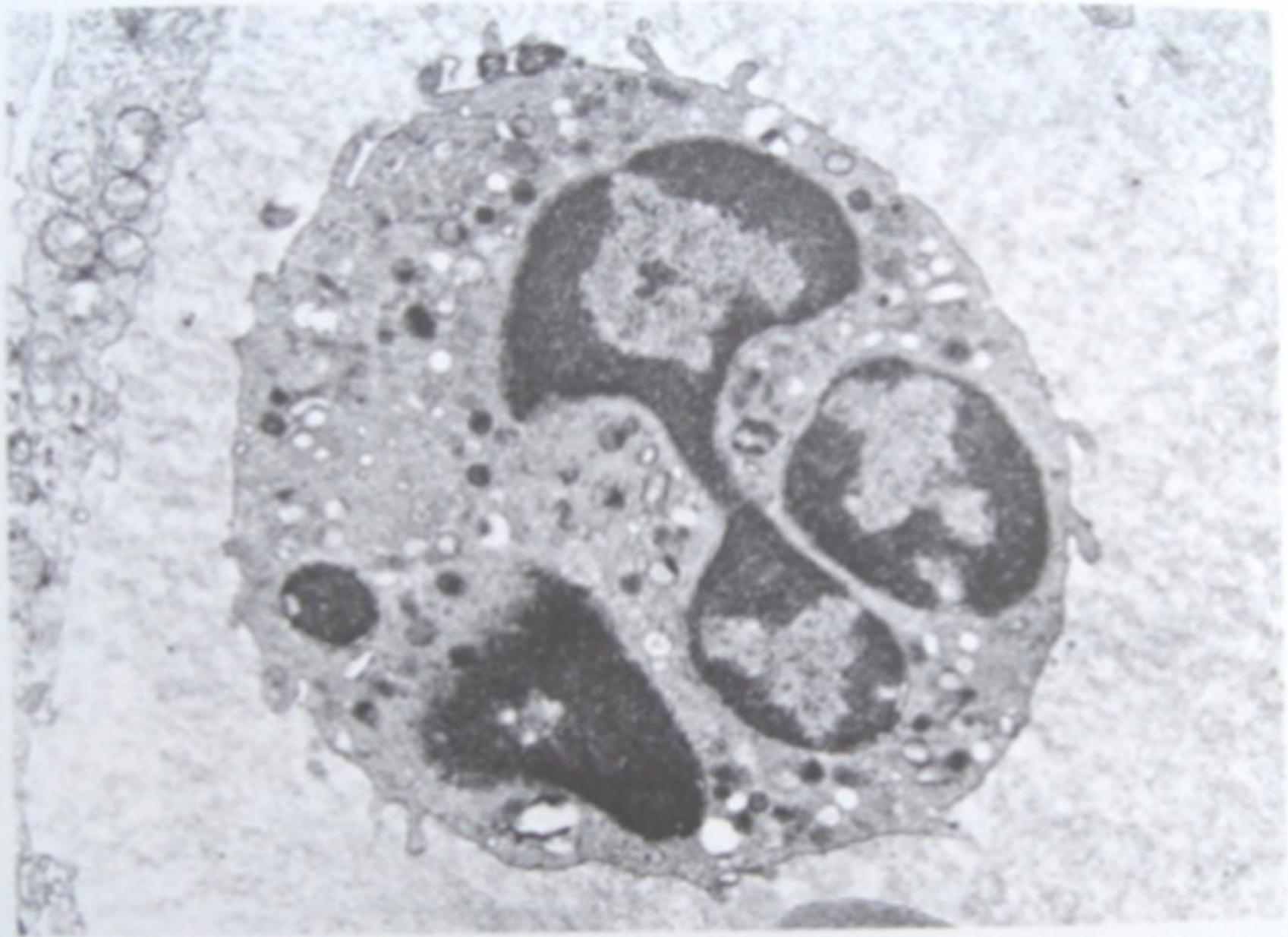
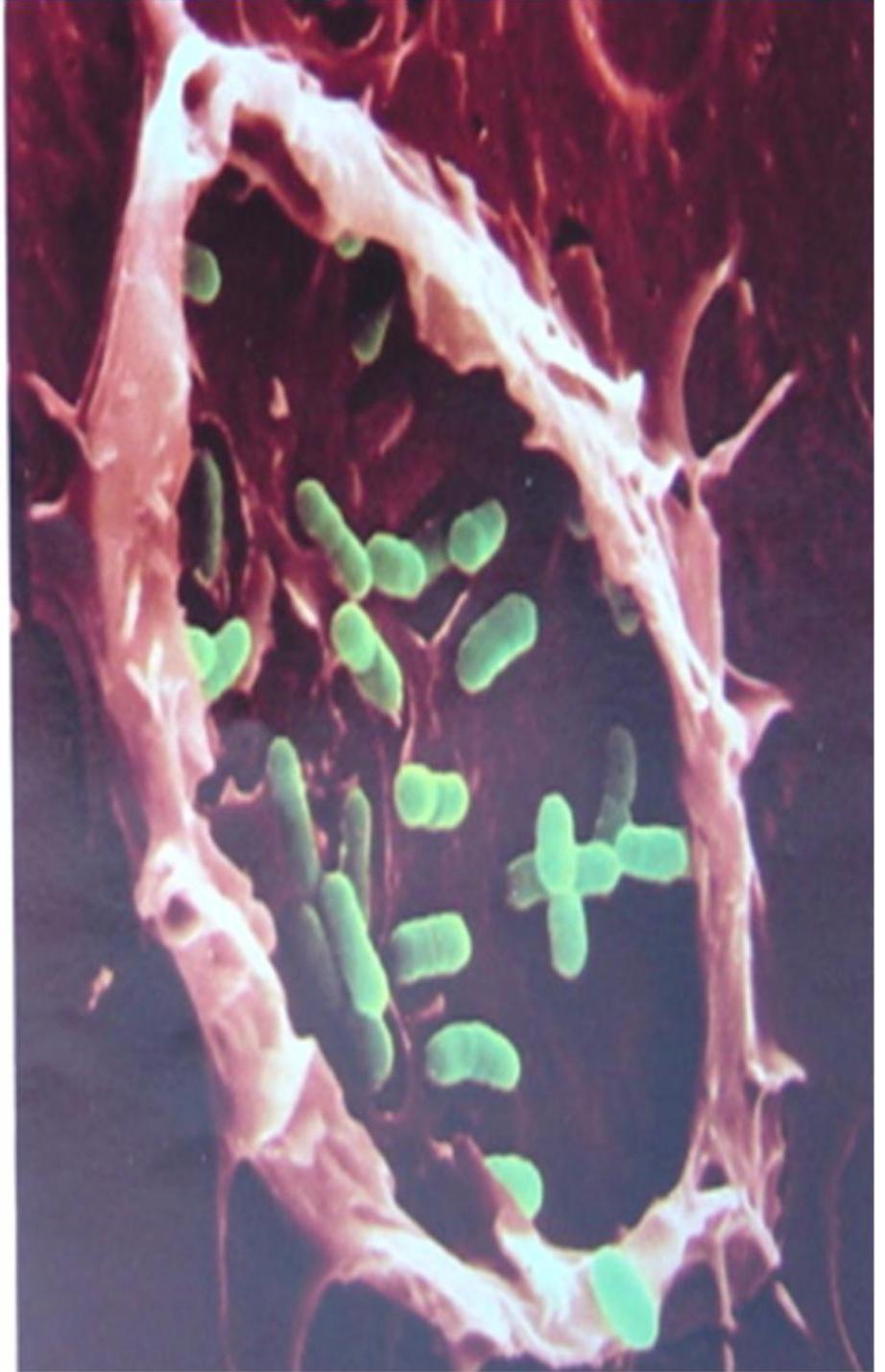


Figure 2-1. The major structural features of a polymorphonuclear neutrophil granulocyte.





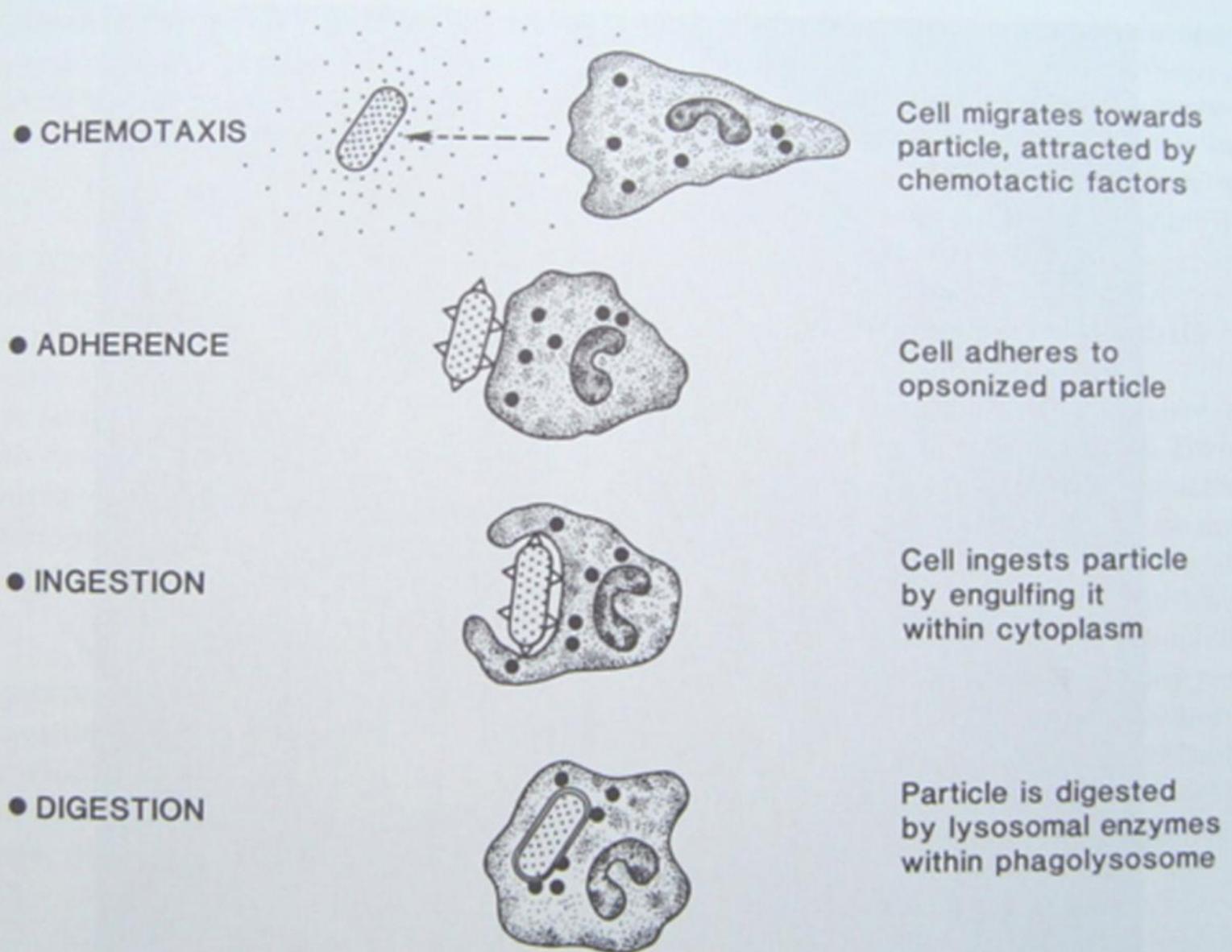
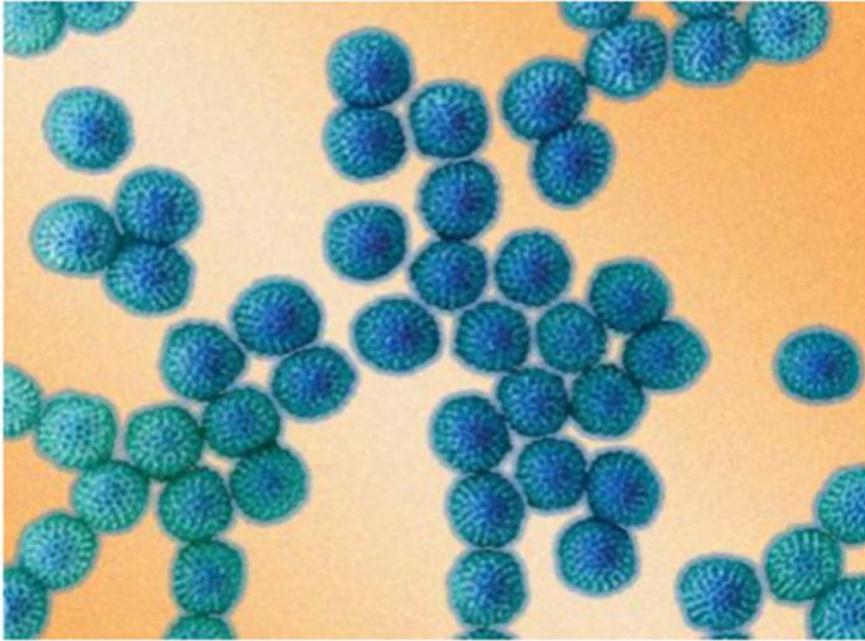


Figure 2-2. Different stages in the process of phagocytosis.

a) Virus: rotavirus



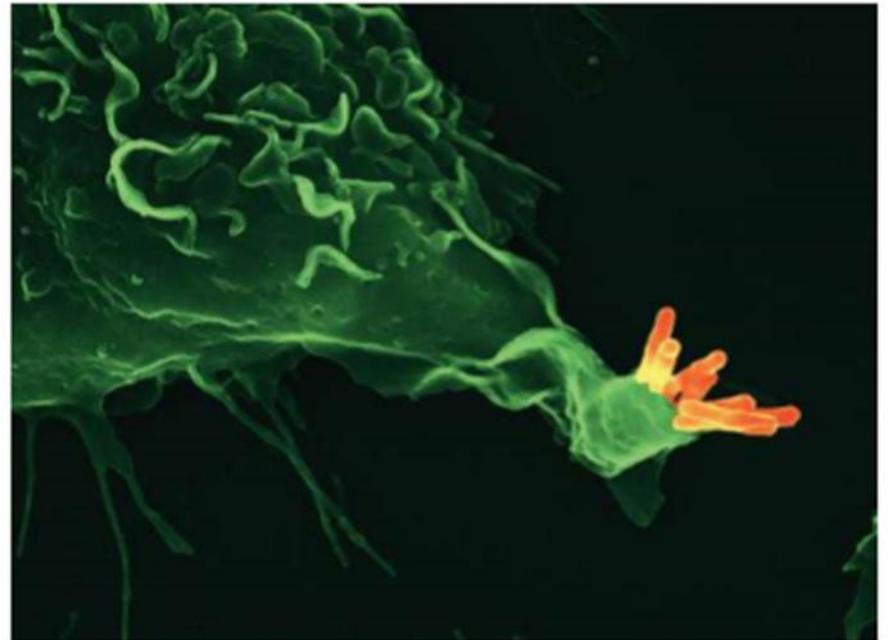
b) Hongo: *Candida albicans*



c) Parásito: Filaria



d) Bacteria: *Mycobacterium tuberculosis*



# Inflamación

Proceso de origen vascular

Mecanismo de defensa a nivel vascular que favorece arribo a zona afectada de polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos:

*Los primeros fagocitan*

*Macrófagos y Linfocitos T, inician y continúan respuesta inmune!*

# **Los mecanismos de defensa no inmunes**

- *Presentes en todos los animales desde su nacimiento (innatos)*
  - *No requieren de un acto de agresión previo para que se activen (inespecíficos)*
  - *Son heredados*
- *Similares en los individuos de la misma especie*

# **II.-Sistema Inmune**

## **Segunda línea inmunológica de defensa!**

**Células altamente especializadas,  
sustancias químicas, enzimas y  
hormonas.**

**Macrófagos. Células ASESINAS.**

**Sistema del Complemento.**

**Interleucinas.**

# **Mecanismos inmunológicos**

- Macrófagos**
- Linfocitos T**
- Linfocitos B**

# **Inmunidad**

- Altamente específica**
- Adquirida**
- Tiene memoria**
- Puede transmitirse de la madre al hijo (Calostro)**

# Provincia de Salta, Argentina





# Ovíparos (Saco vitelino/Yema)

Peces, Anfibios, Reptiles, Aves



# Sistema inmune

- Ejército integrado por diferentes soldados dentro ciudad amurallada
- **Cuarteles:** Cúmulos tejido linfoide
- **Soldados:** Linfocitos T y B sensibilizados que detienen y destruyen solo antígenos específicos: cerdo vacunado contra Diarrea Epidémica Porcina, solo esta protegido contra coronavirus del PED, no versus otra enfermedad infecciosa de los cerdos
- **¡Altamente específico!**

# **Sistema inmune:**

**Estado totalitario, fascista,  
dictatorial con:**

**¡Tolerancia cero!**

# Órganos del Sistema Inmune:

- Primarios
- Secundarios

# Órganos Linfoides Primarios

*(Regulan la producción y diferenciación de linfocitos)*

**Médula Ósea  
(Células precursoras)**

**Timo**

**Bolsa Fabricio (Aves)**

# Órganos Linfoides Secundarios

(Estimulación antigénica de células linfoides)

- Bazo
- Placas de Peyer
- Ganglios linfáticos
- Cúmulos linfoides en mucosas respiratorias, gastrointestinales y urogenitales

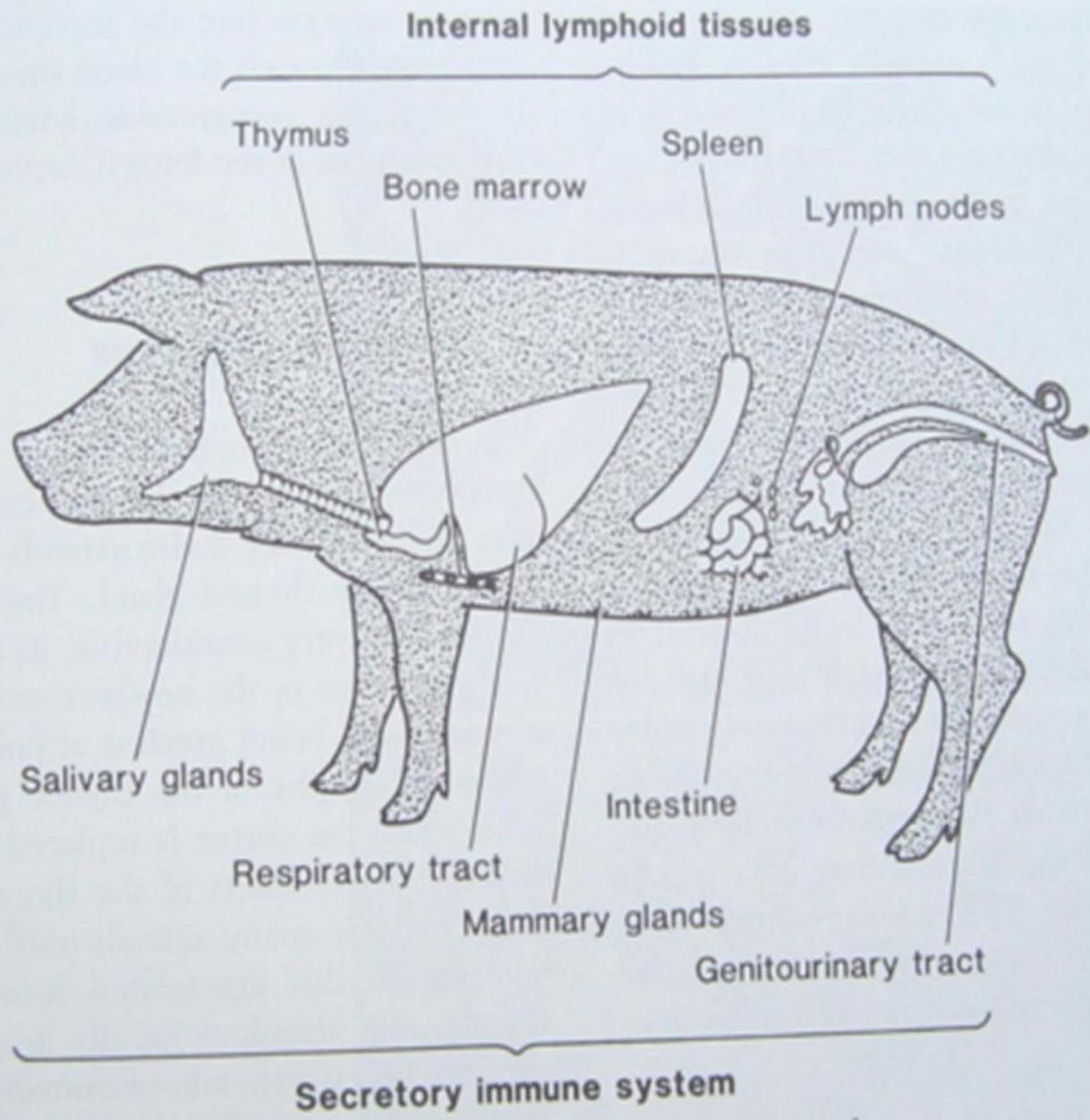
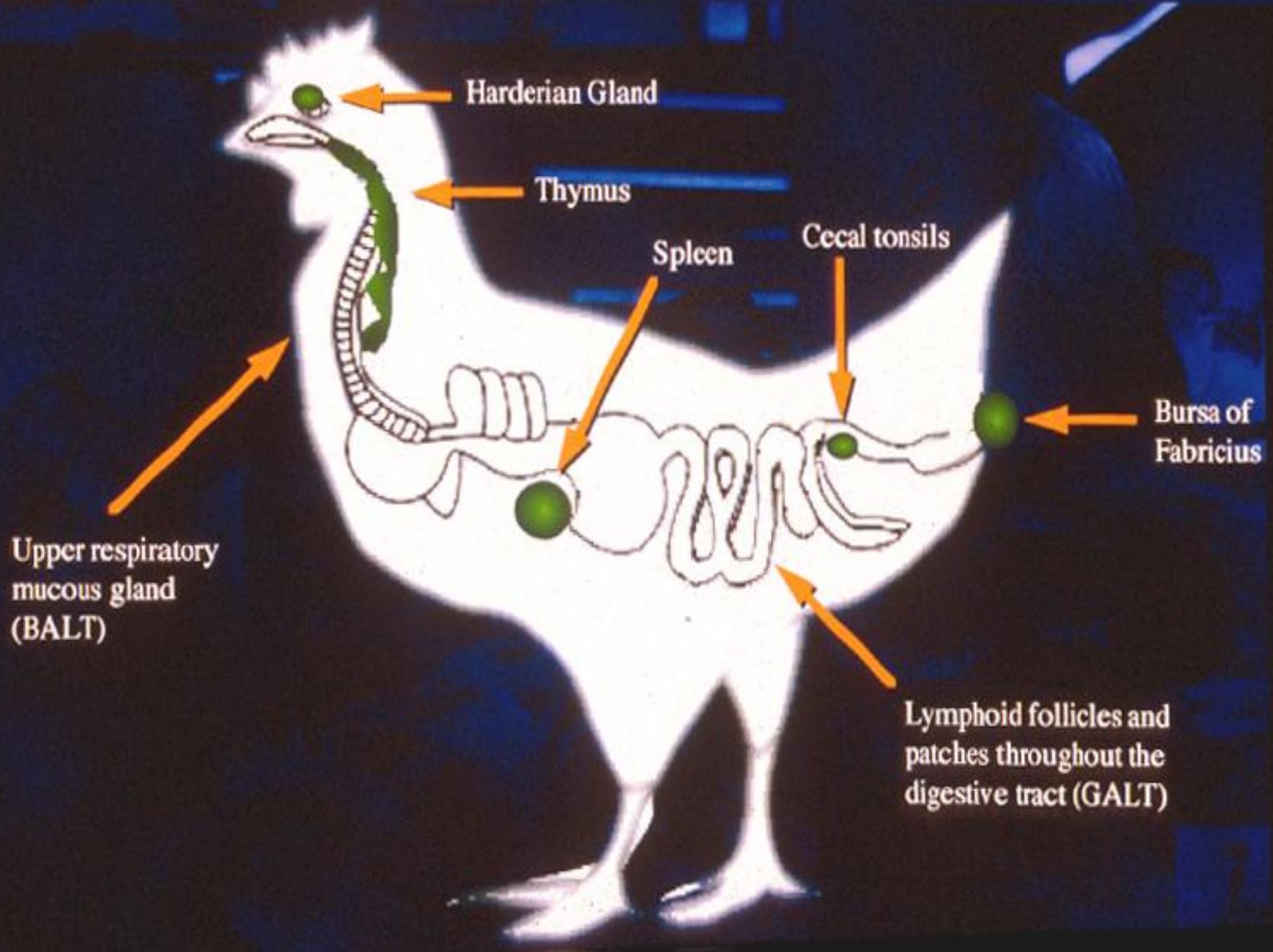
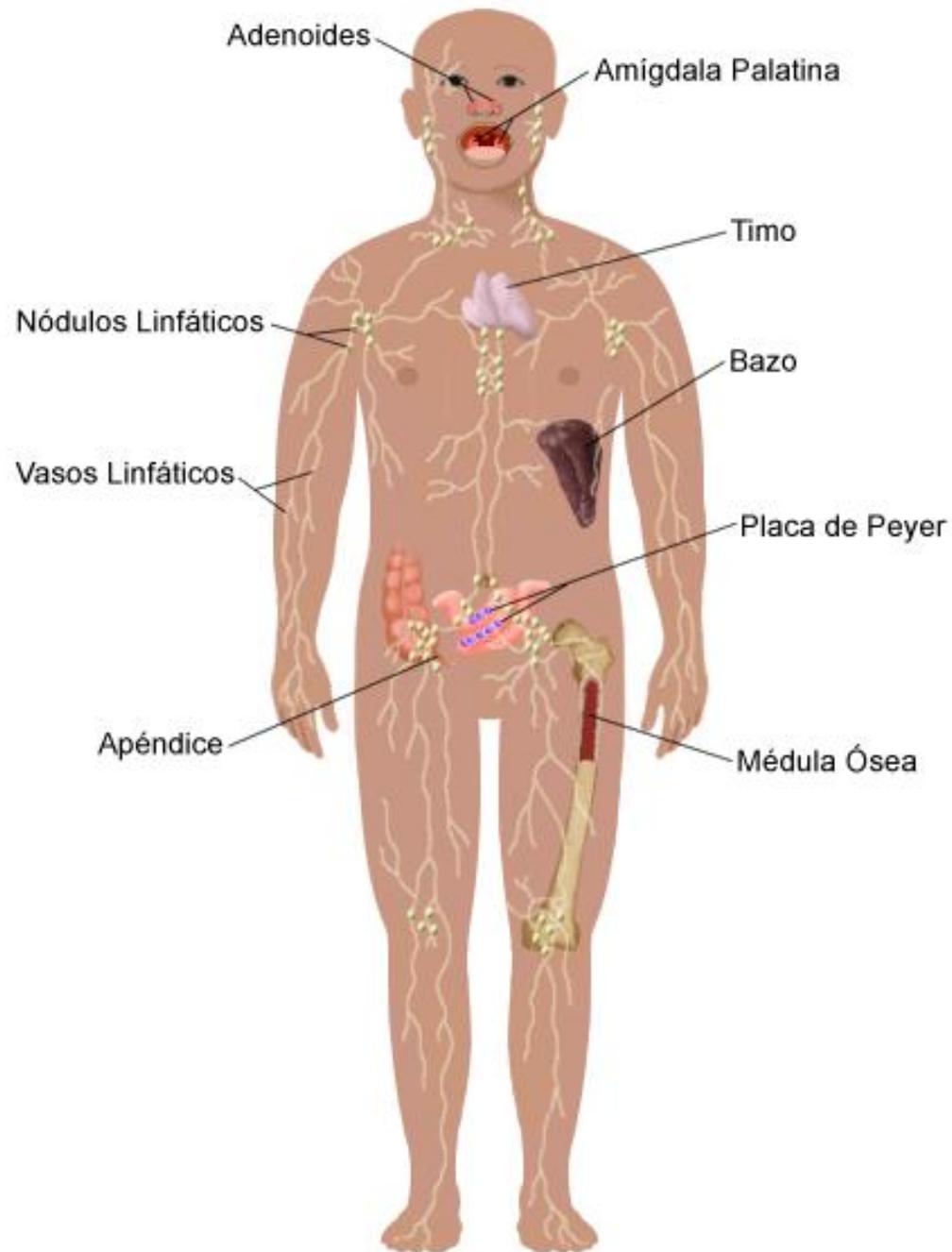


Figure 5-2. The lymphoid tissues of animals.

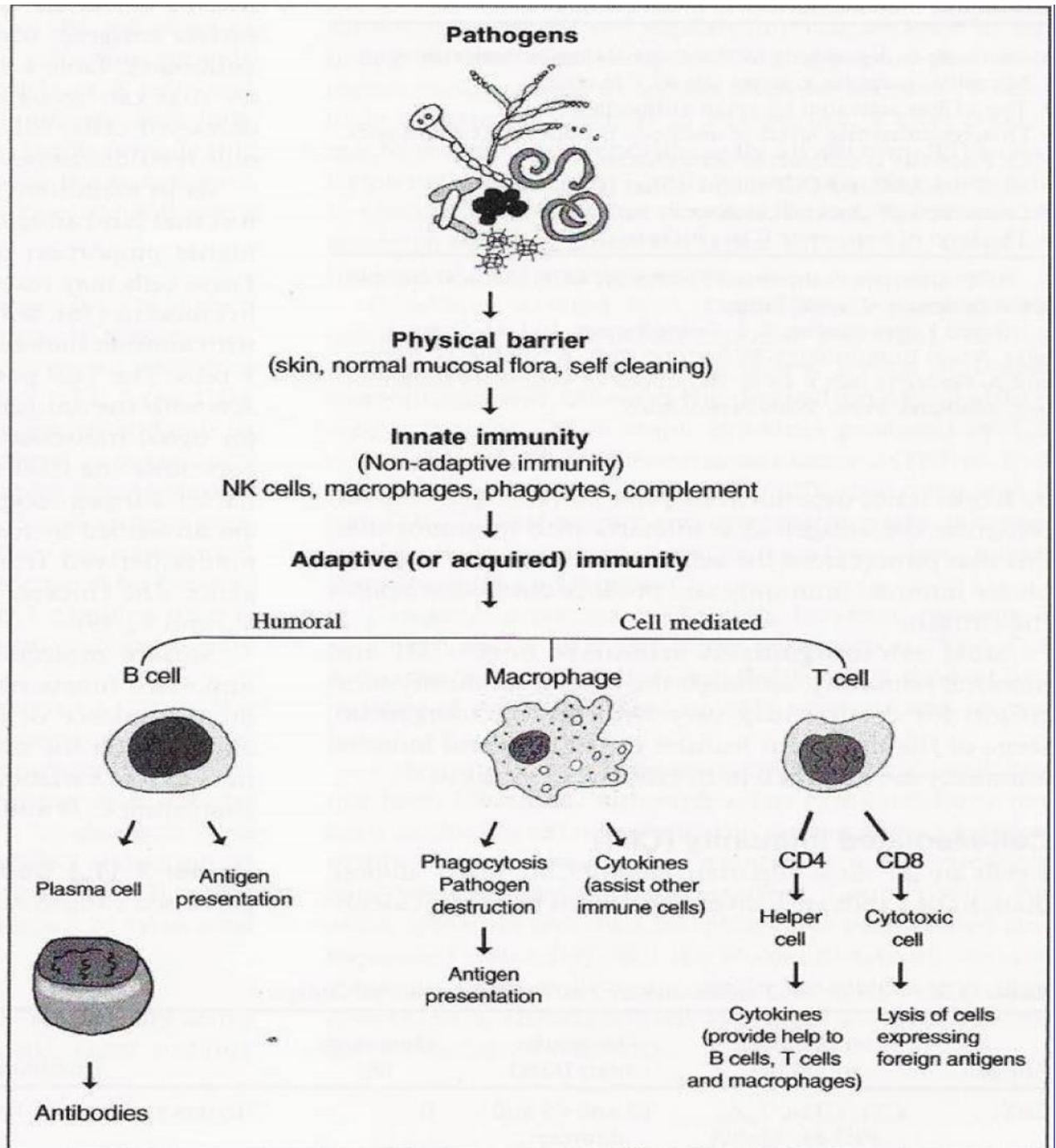
# Primary Lymphoid Organs



# El Sistema Inmunológico



**1.3. Physical and immunological mechanisms of defense against pathogens in birds.**



# **Sistema Inmune General**

**Leucocitos (glóbulos blancos)**

**Células cebadas**

**Plaquetas**

**Basófilos, neutrófilos y  
eosinófilos (Polimorfonucleares)**

**Monocitos**

**Células asesinas**

# **Macrófagos** (gran comedor)

- Células redondas, gran núcleo, citoplasma abundante con enorme capacidad fagocítica.
- Se hallan en sangre, líquidos tisulares y tejidos de todo cuerpo.
- **Médula ósea:** monoblastos → sangre: monocitos → tejidos: macrófagos!

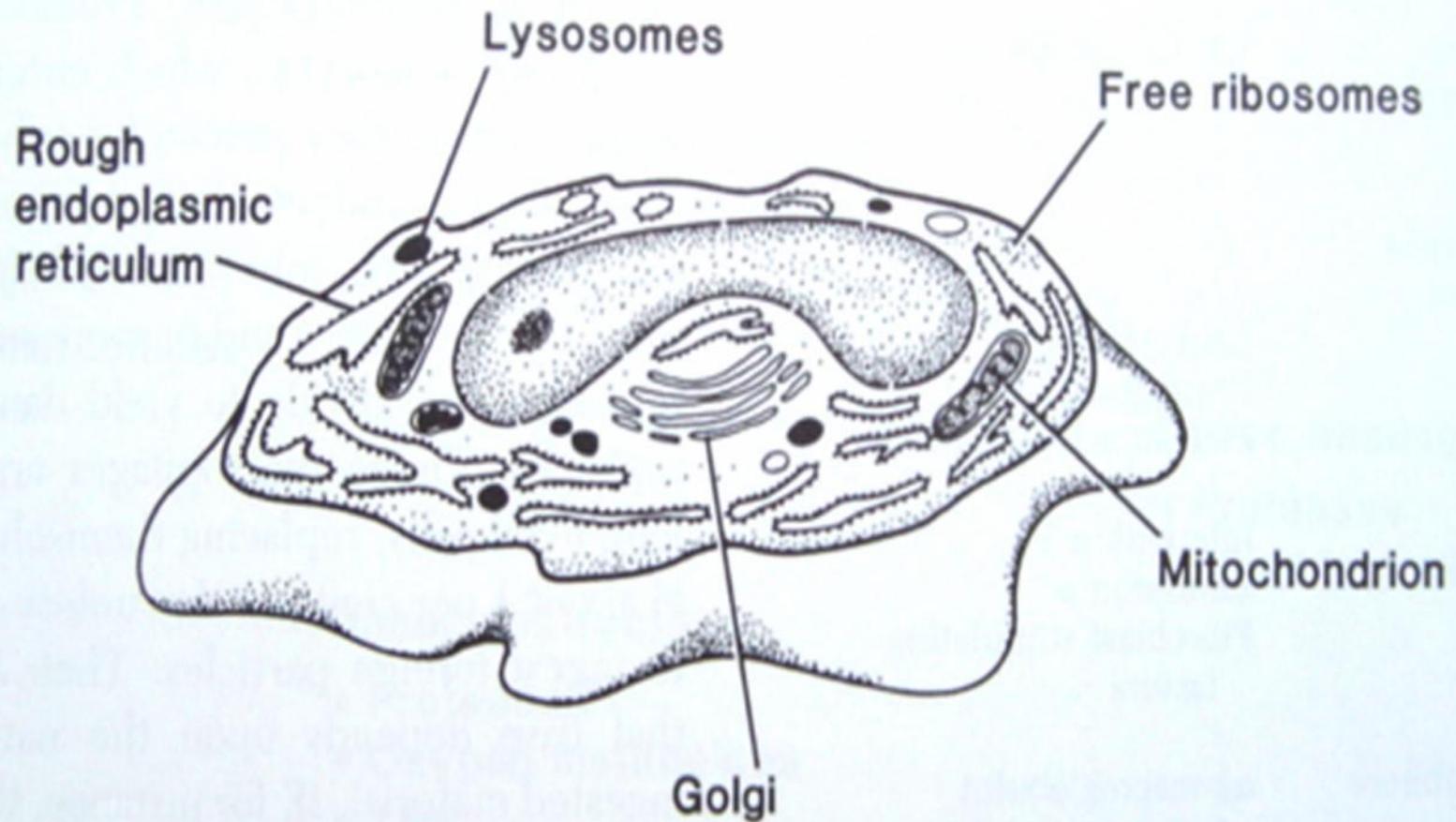
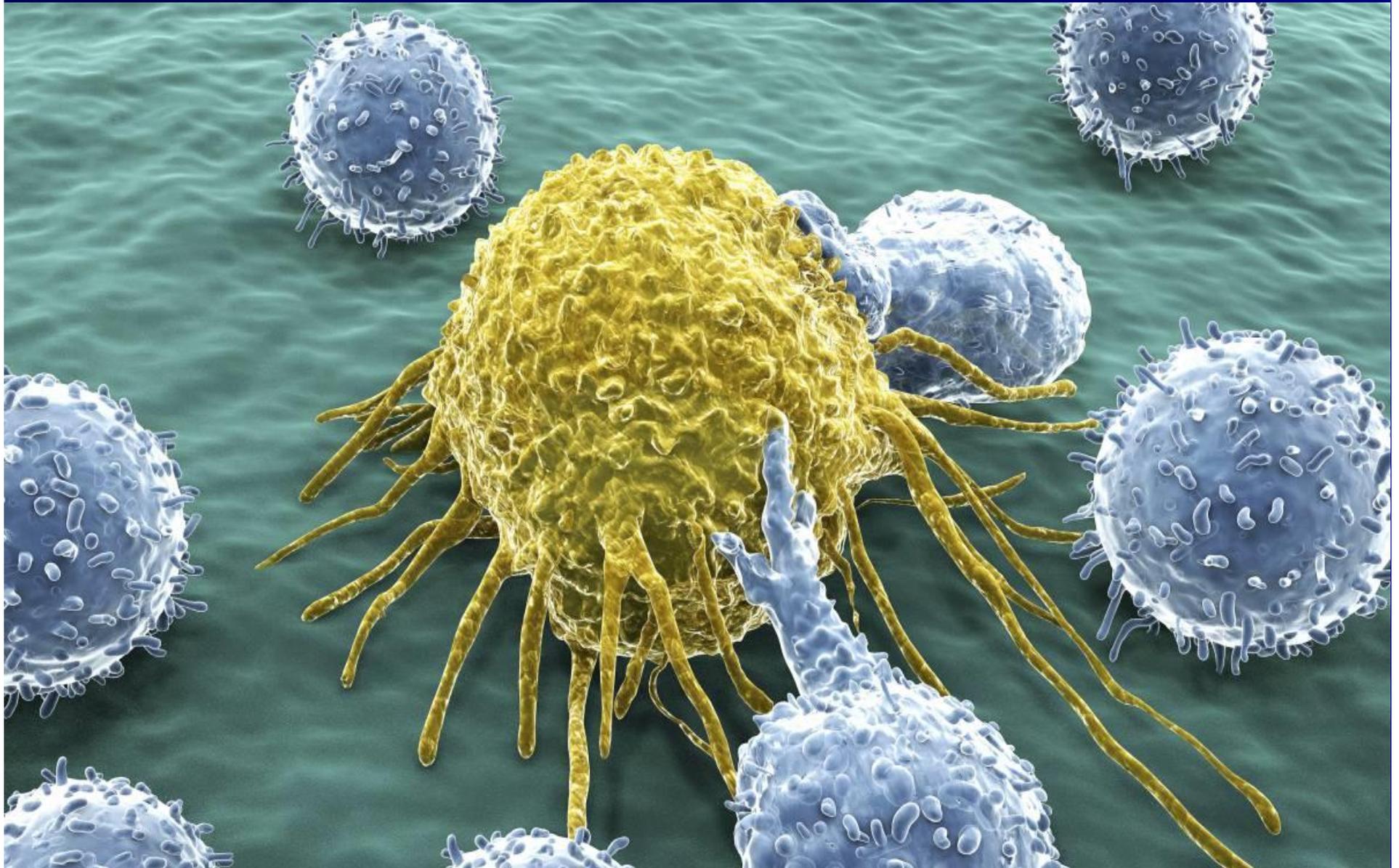
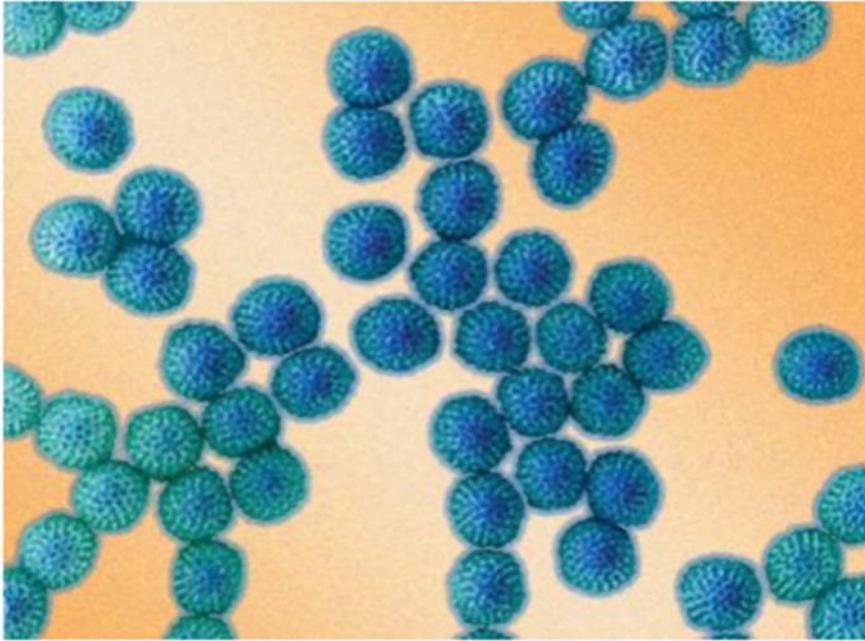


Figure 2-6. The major structural features of a macrophage.

# Células asesinas (NK) atacando una célula cancerosa



a) Virus: rotavirus



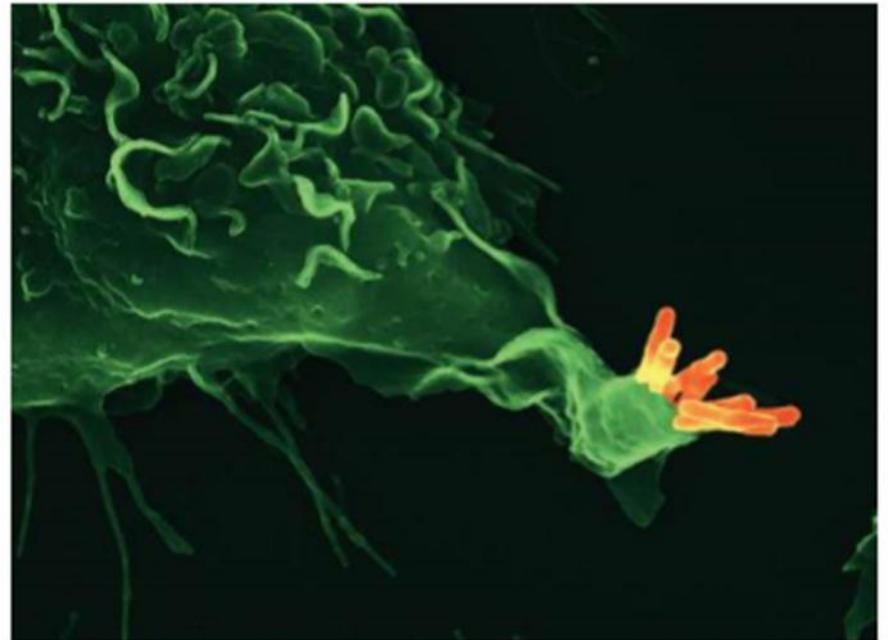
b) Hongo: *Candida albicans*

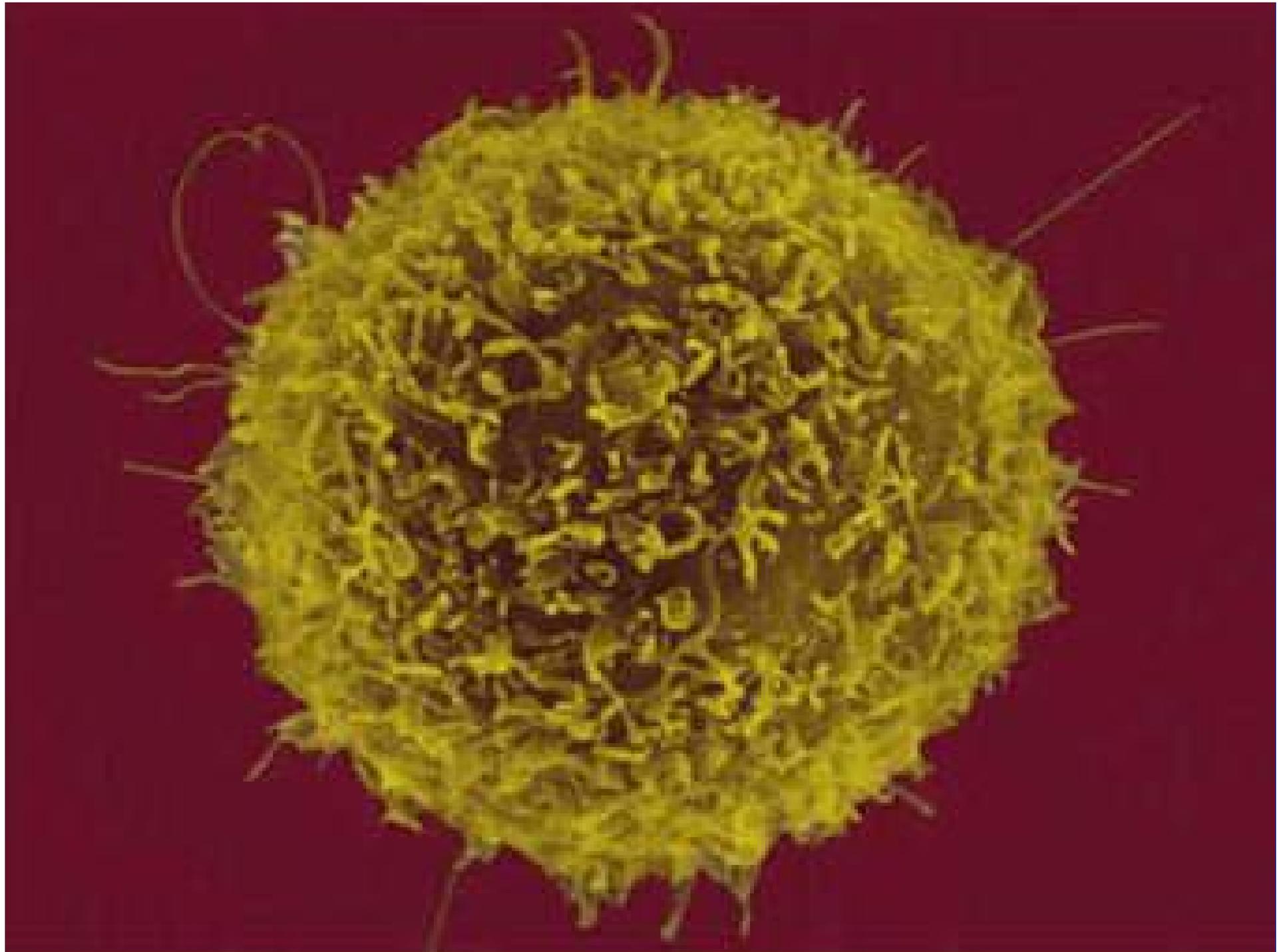


c) Parásito: Filaria

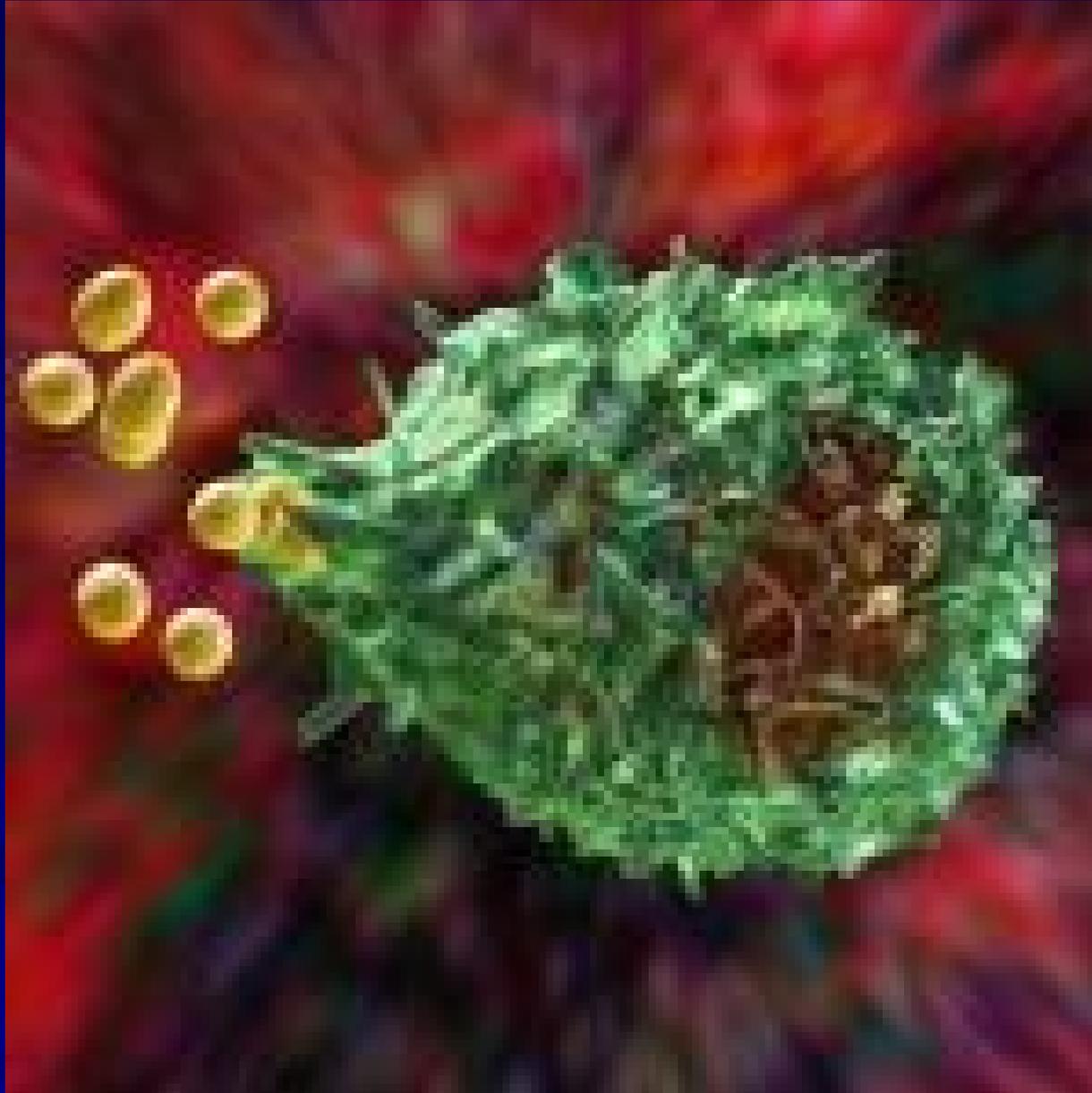


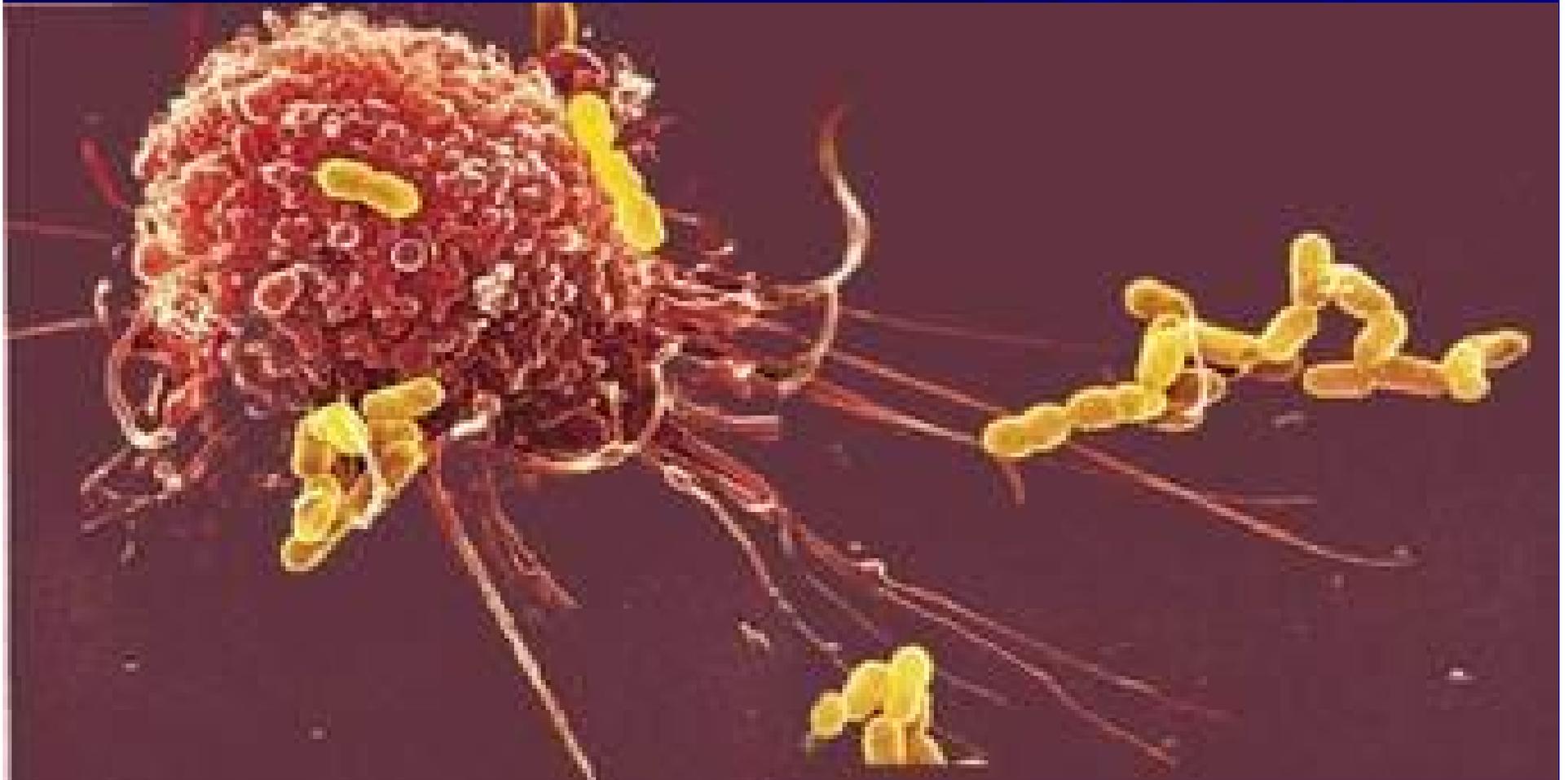
d) Bacteria: *Mycobacterium tuberculosis*





# Macrófago





# Macrófagos

## Funciones

**Procesamiento y presentación de antígenos. Reorganización tisular, sanado de heridas, destrucción células tumorales. Secreción de linfocinas: Interleucina 1, Complemento, Prostaglandinas, Factores de Coagulación**

# Macrófagos

**Médula ósea:** Promonocitos

**Sangre:** Monocitos

**Tejido Conectivo:** Histiocitos

**Hígado:** Células de Kupffer

**Cerebro:** Microglía

**Pulmones:** Macrófagos alveolares

**Bazo:** Macrófagos esplénicos

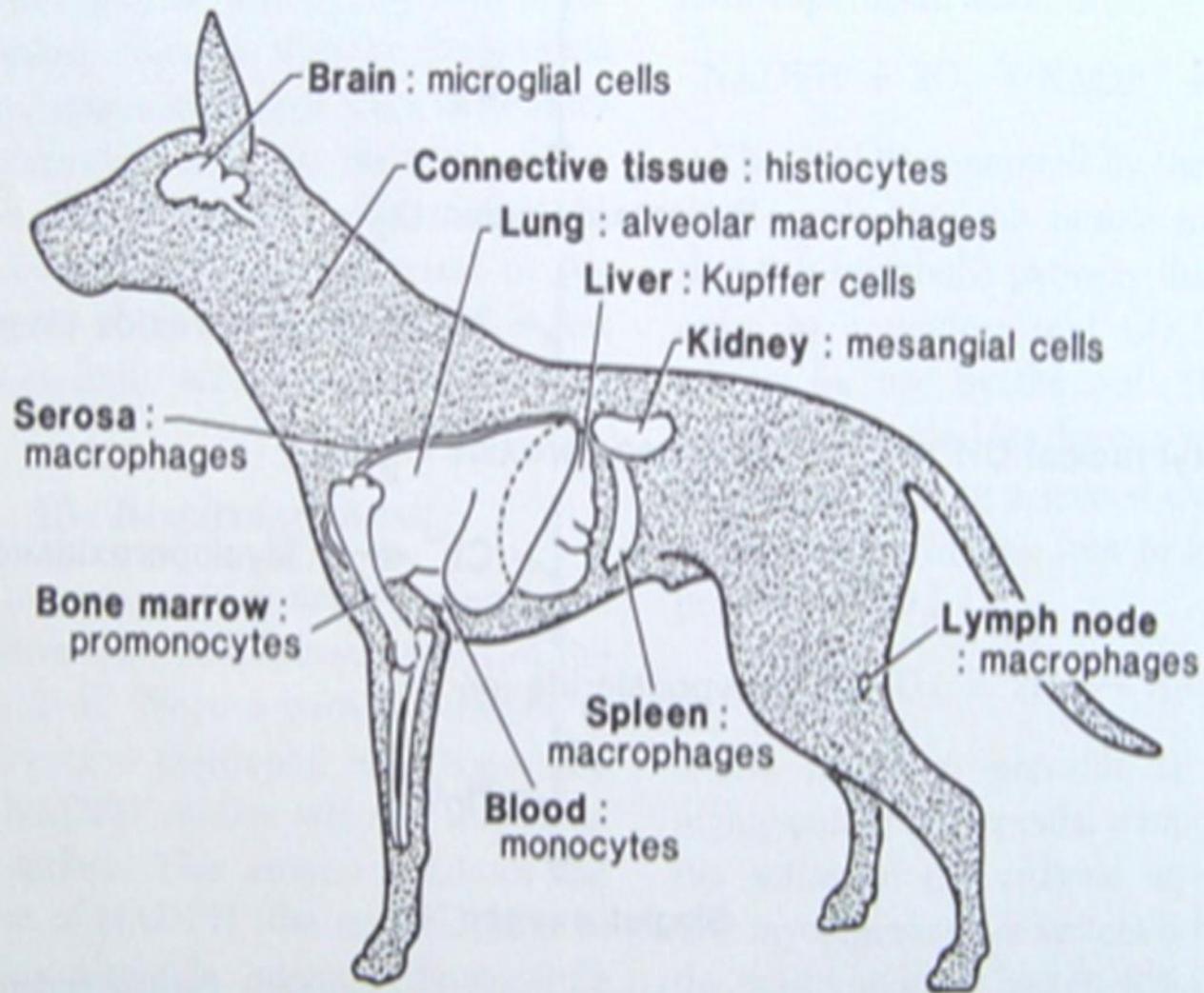
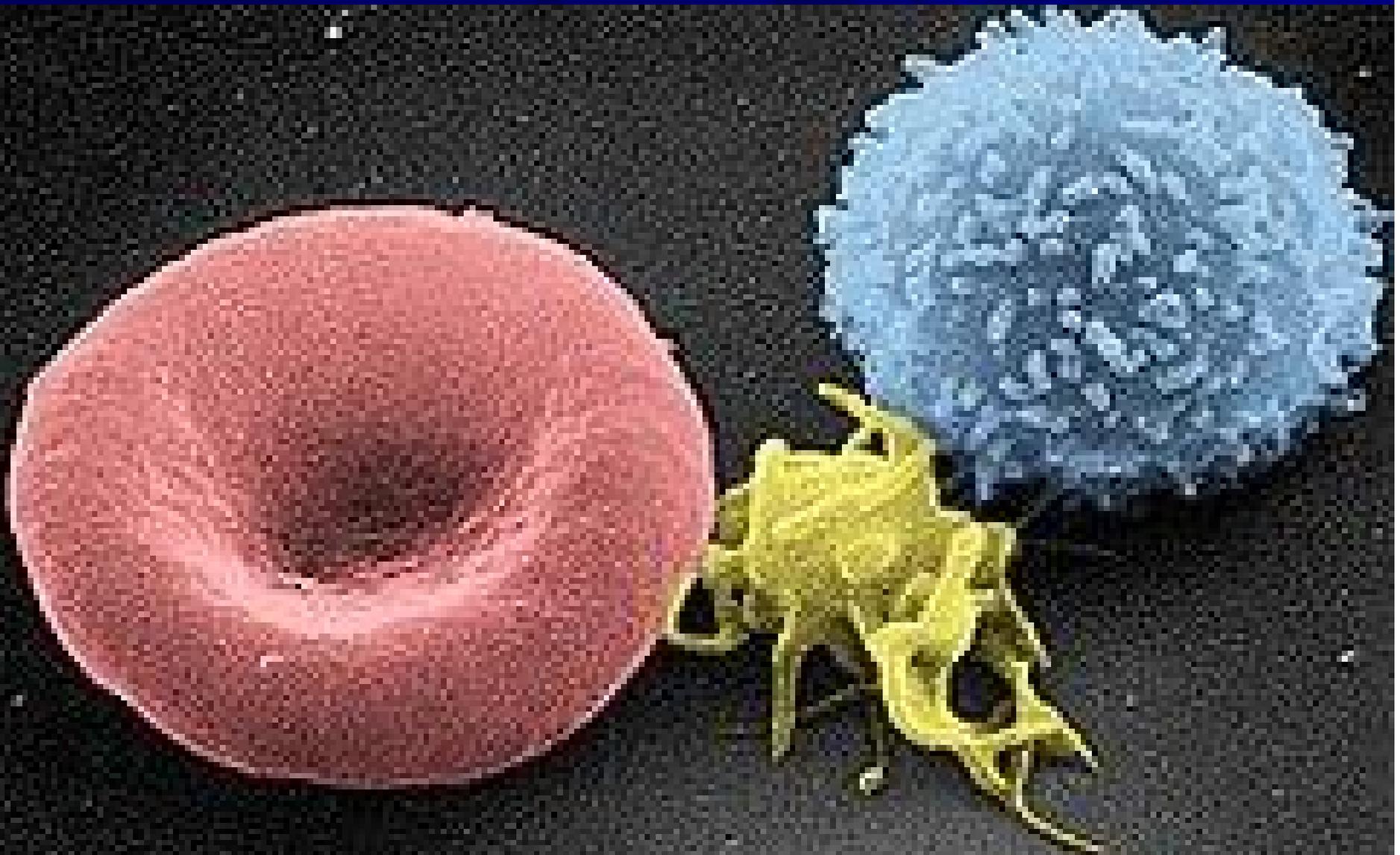
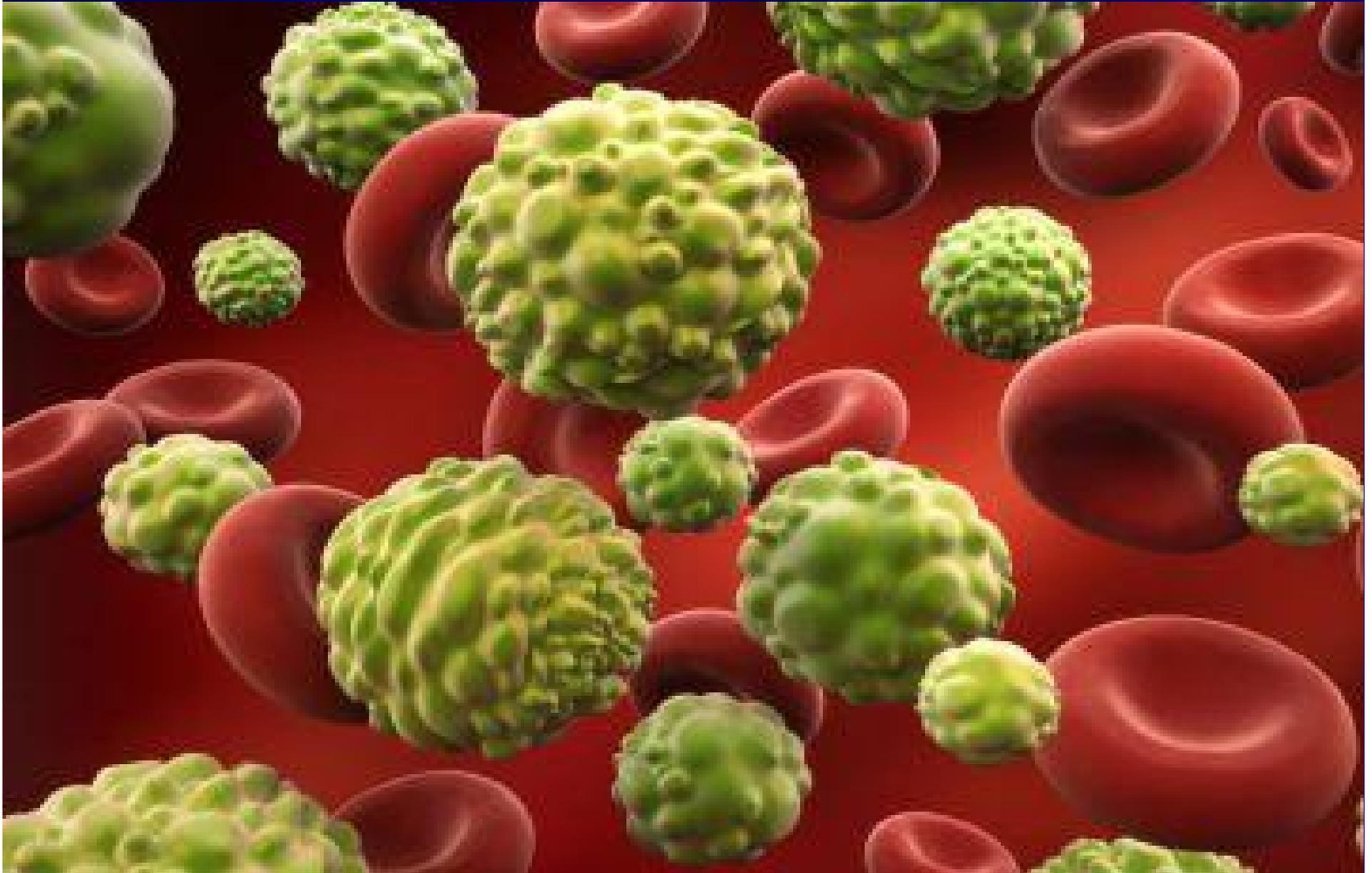


Figure 2-5. The cells of the mononuclear-phagocytic system.

# Eritrocito, Plaqueta y Glóbulo blanco de mamífero



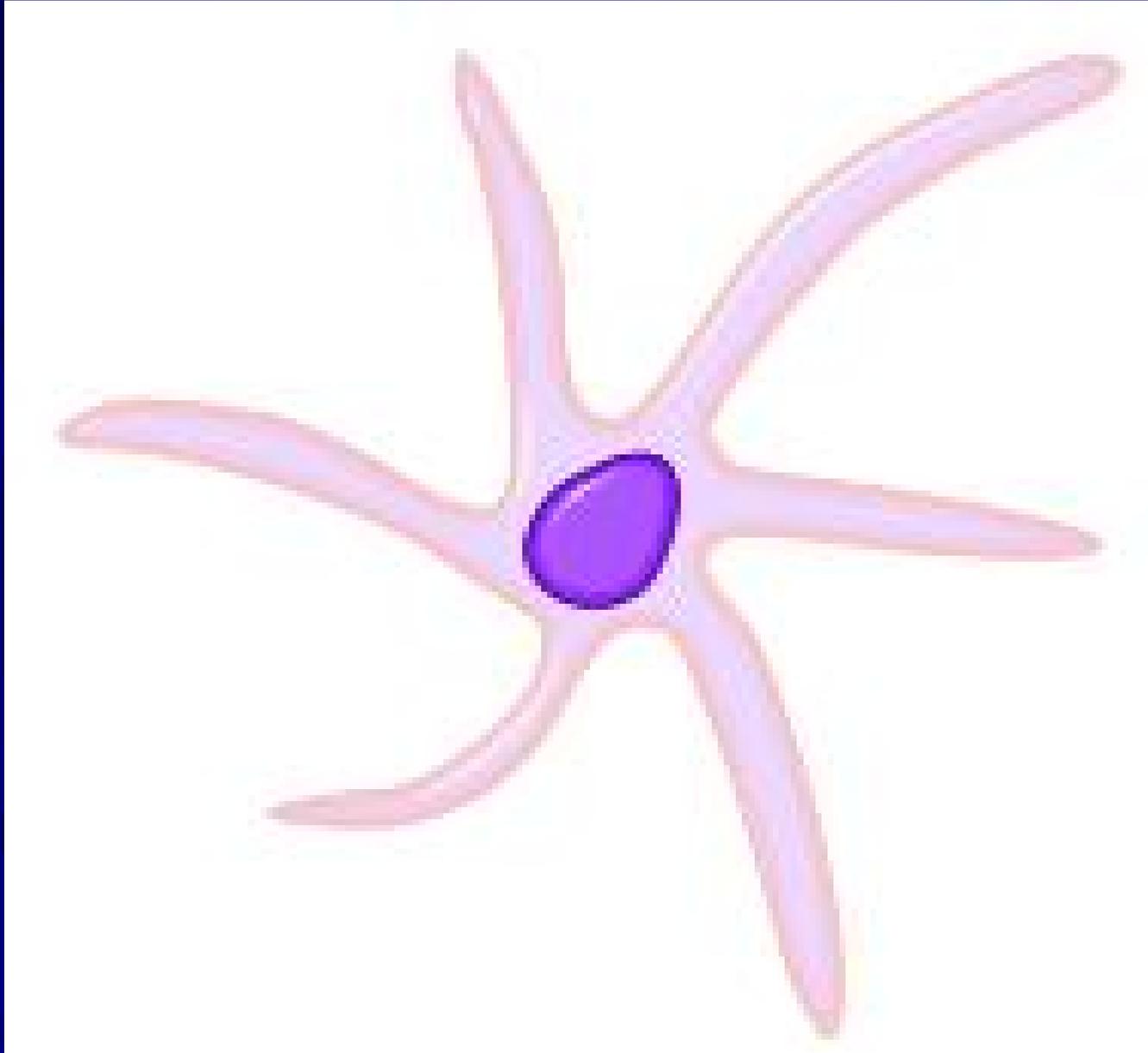
# Eritrocitos y Macrófagos

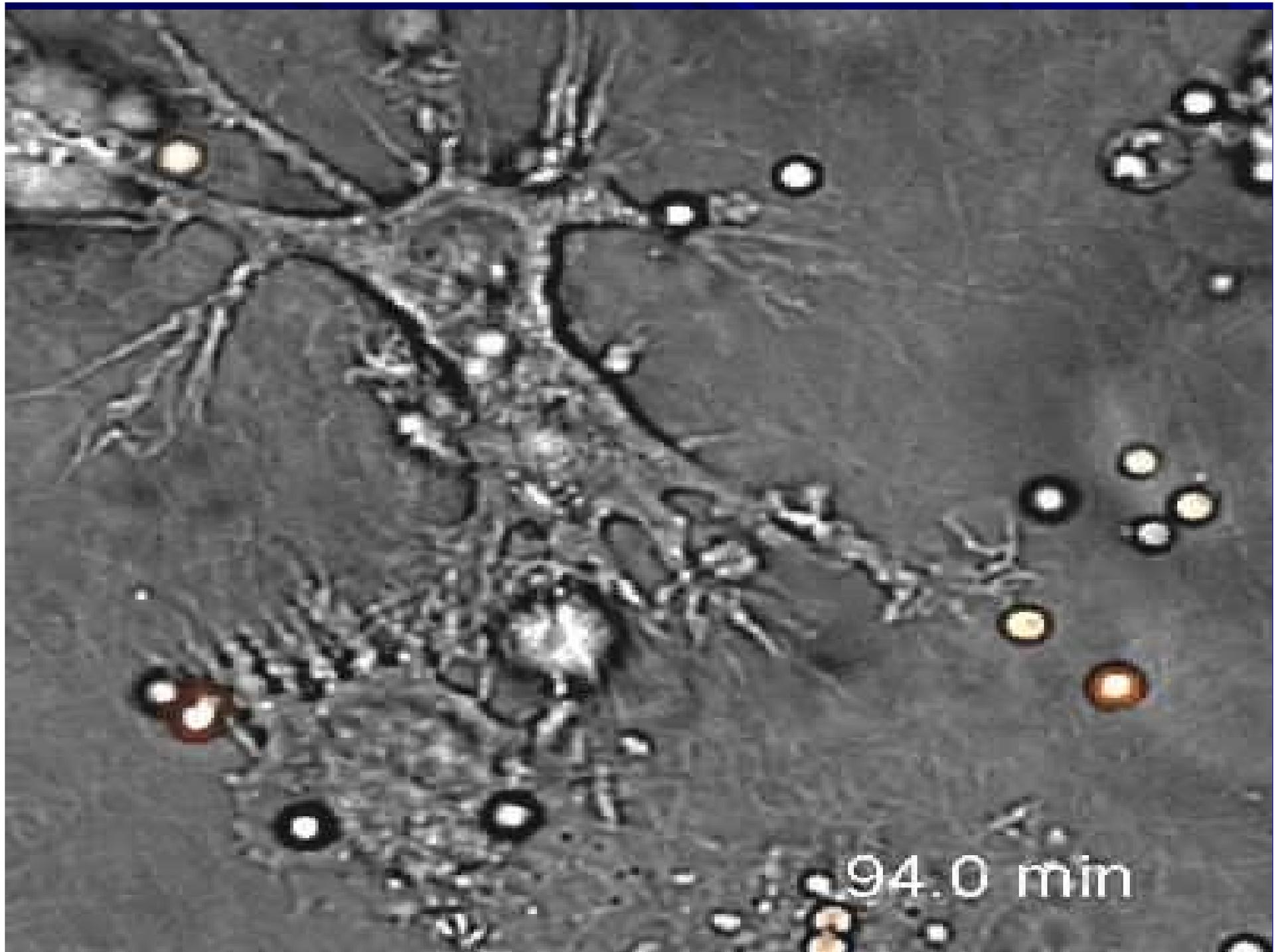


# **Macrófagos**

**Células presentadoras de  
antígeno**

# Célula Dendrítica





# Fagocitosis

## 1.- Fagocitos

### Polimorfonucleares (neutrófilos)

Proceso ingestión partículas extrañas,  
parásitos, bacterias, virus, partículas  
inertes, etc.

¡Sistema de limpieza!

## 2.- Macrófagos

Presentadores de antígenos

¡Respuesta inmune!

# **Fagocitosis en tracto G. I. ocurre a nivel submucosa donde actúan Fagocitos Polimofonucleares y Macrófagos**

*¡Contrariamente, el **pulmón** esta en contacto directo con medio ambiente, existe intensa actividad fagocítica fagocitos alveolares, mantienen los pulmones estériles, a diferencia del T.G.I. que mantiene una enorme microflora bacteriana!*

# **Macrófagos** (Sistema Inmune)

**Reconocimiento →  
Adherencia → Presentación a  
Células Ayudadoras T.**

***¡Inicio de Respuesta  
Inmunológica!***

**Existen tres grupos de células de la inmunidad: los desdobladores de células, cuya célula principal es el macrófago y dos tipos de linfocitos: T y B**

**Todos ellos comparten el mismo objetivo:**

***Identificar y destruir todas las sustancias vivas o inertes que no sean propias del cuerpo, incluyendo las cancerosas!***

# Inmunidad mediada por células

**Macrófago:** *Interleucina 1*

**Linfocitos T Cooperadores CD4+:**

*Interleucina 2, Factor Crecimiento*

*Células B, Factor diferenciación Células*

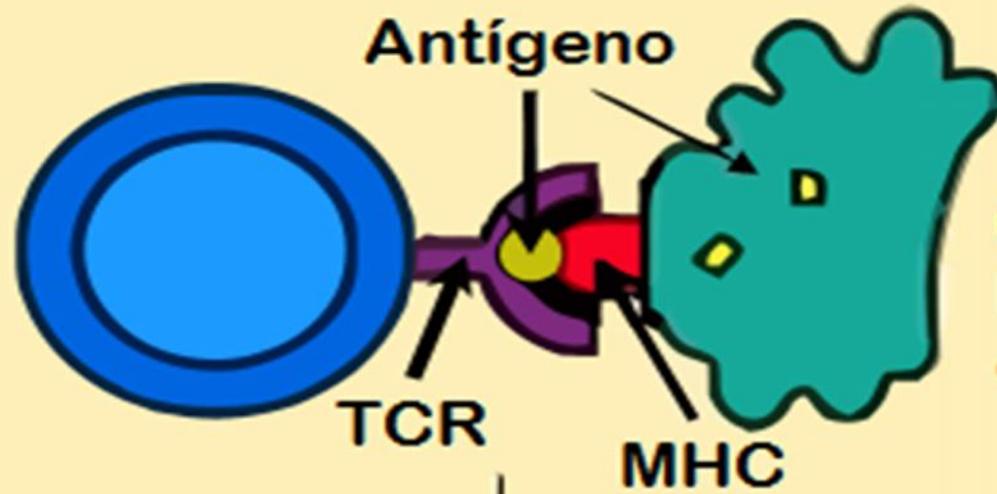
*B y Gamma Interferón*

**Células T citotóxicas CD8+ (Asesinas)**

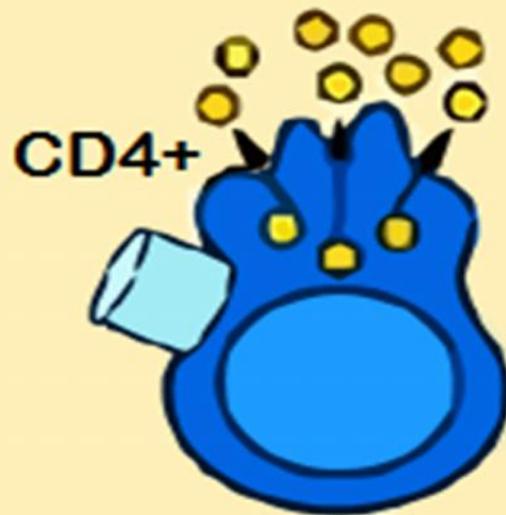
**Linfocitos T Supresores**

**Linfocitos T de Memoria**

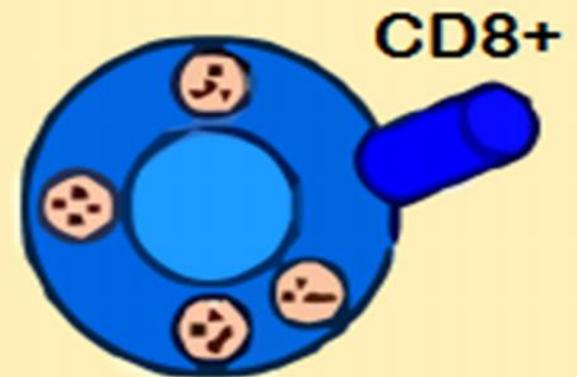
Linfocito T  
Inmaduro



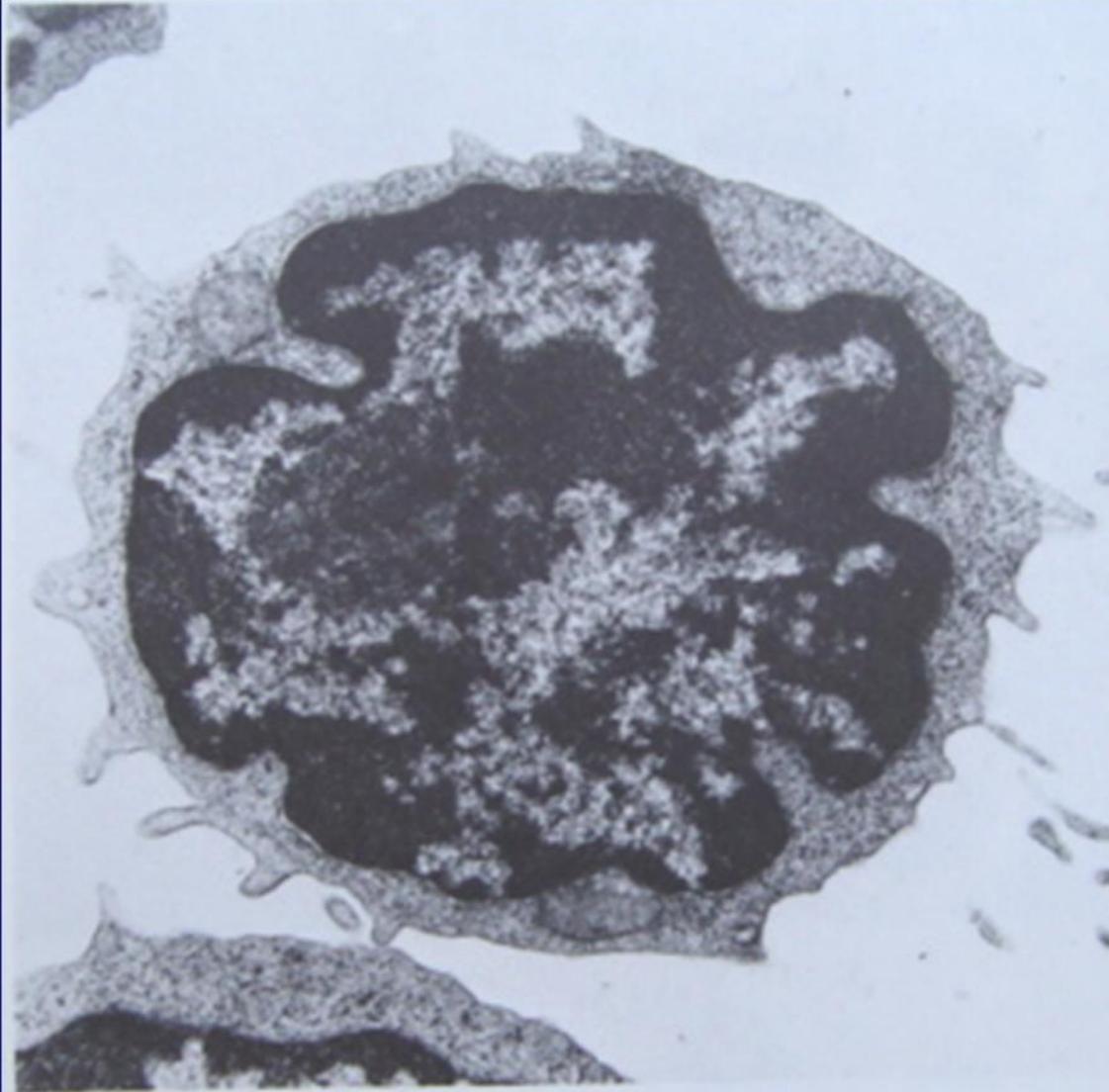
Célula  
Presentadora  
de Antígenos



Linfocito T colaborador  
Maduro

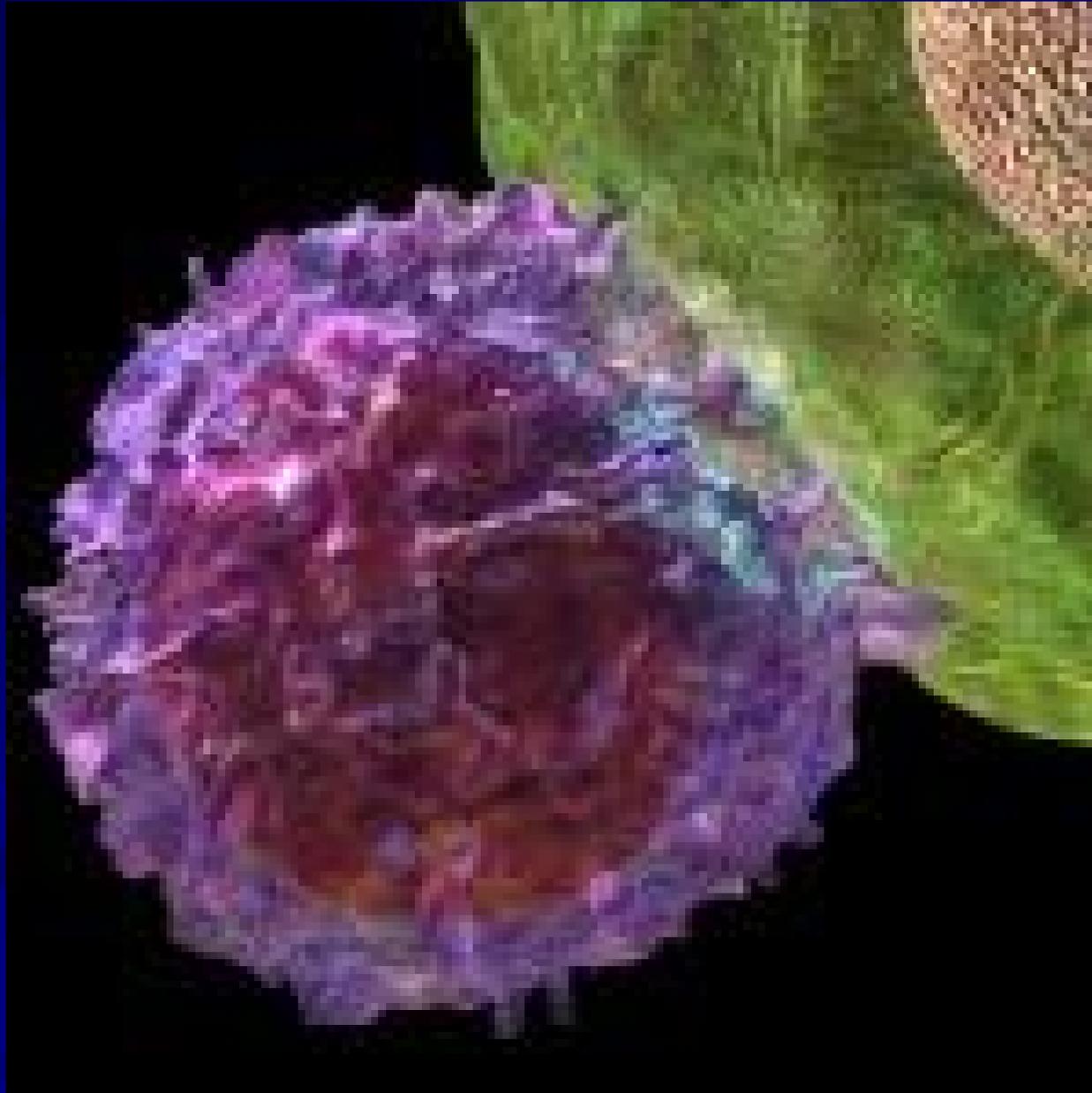


Linfocito T citotóxico  
Maduro



**Fig. 2.6 Electron micrograph showing the T cell ultrastructure.** The majority of circulating resting T lymphocytes have a thin rim of cytoplasm containing few mitochondria and polysomes, and little organized rough endoplasmic reticulum.  $\times 20,000$ .

# Célula asesina



# Linfocito NK. Célula ASESINA

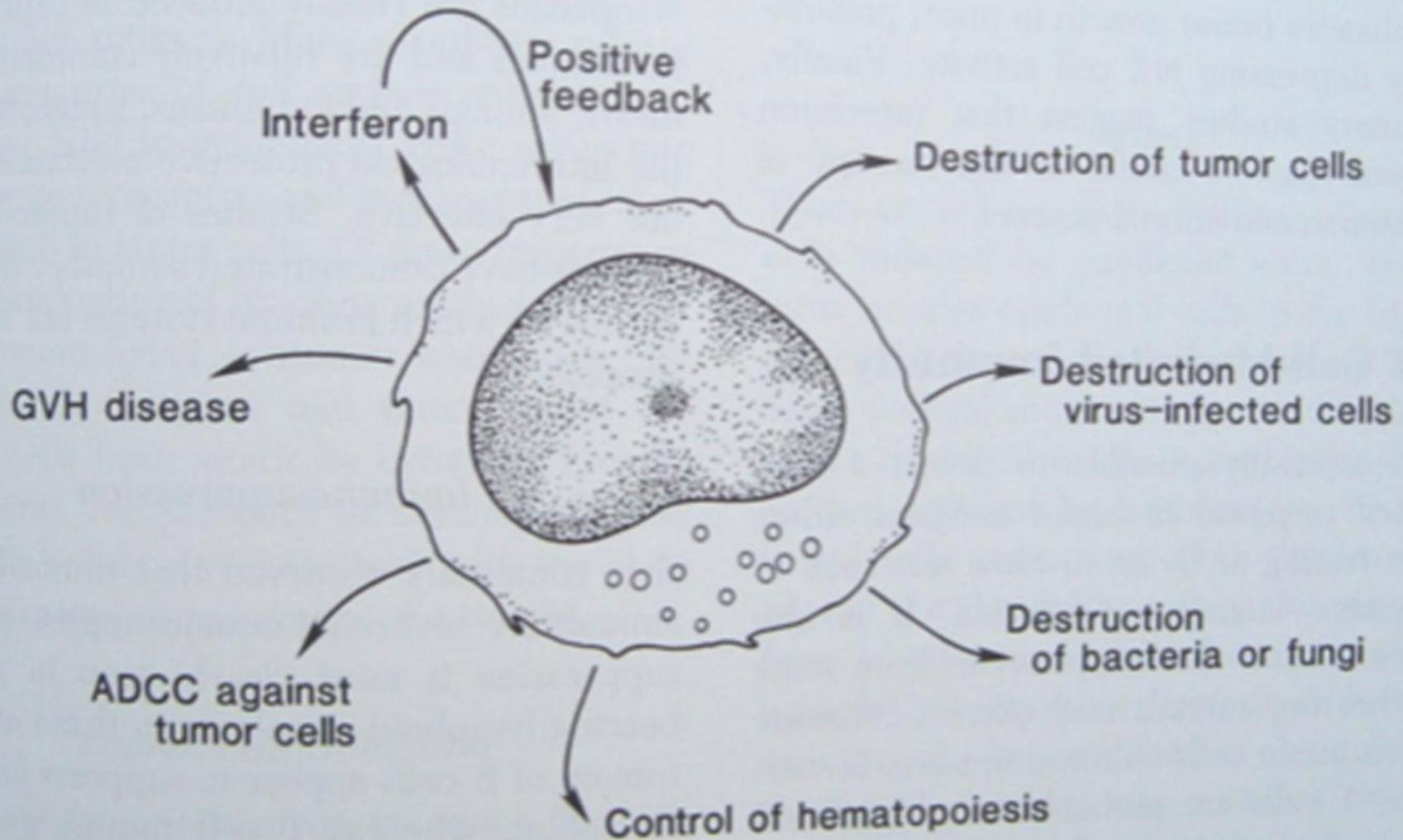


Figure 18-6. The properties of NK cells.

# Célula asesina

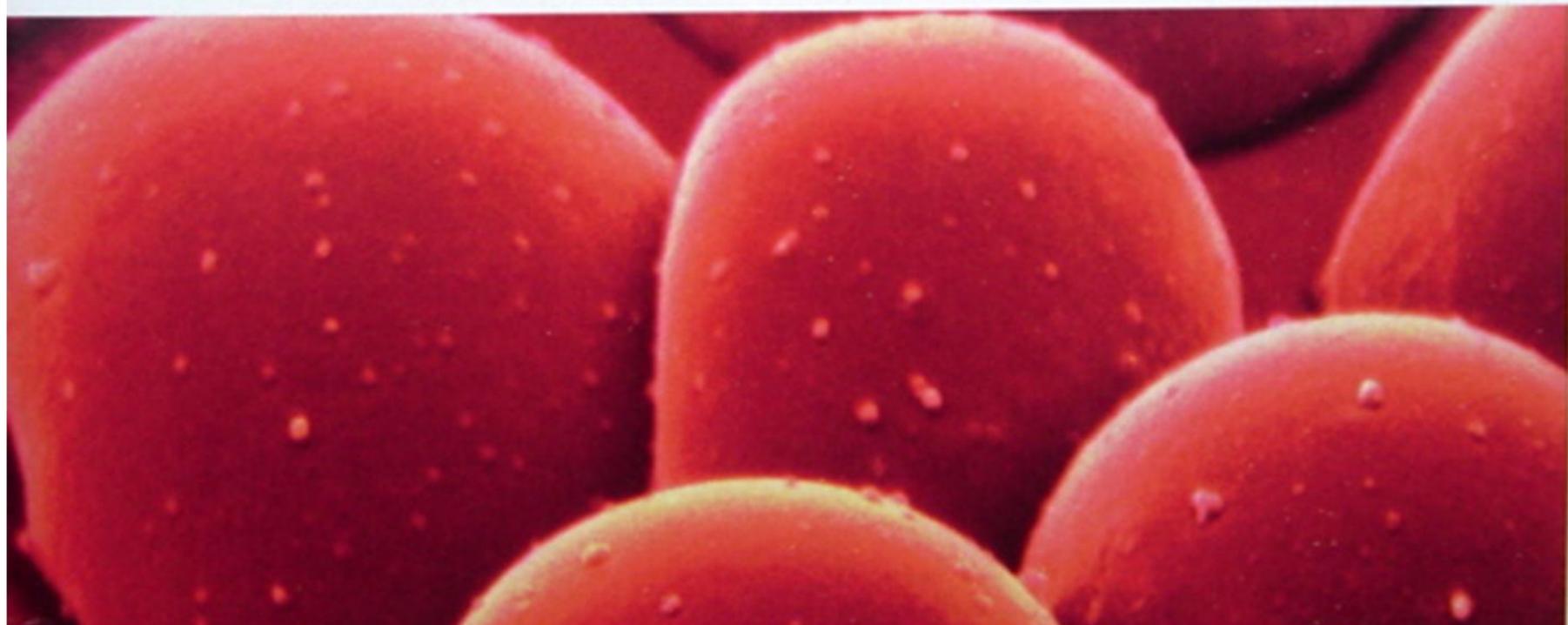


parasites become big killers. One, *Pneumocystis carinii*, resides quiescent in most of us. When the immune system is severely compromised, it can cause a lethal pneumonia that is a major cause of death among victims of AIDS.

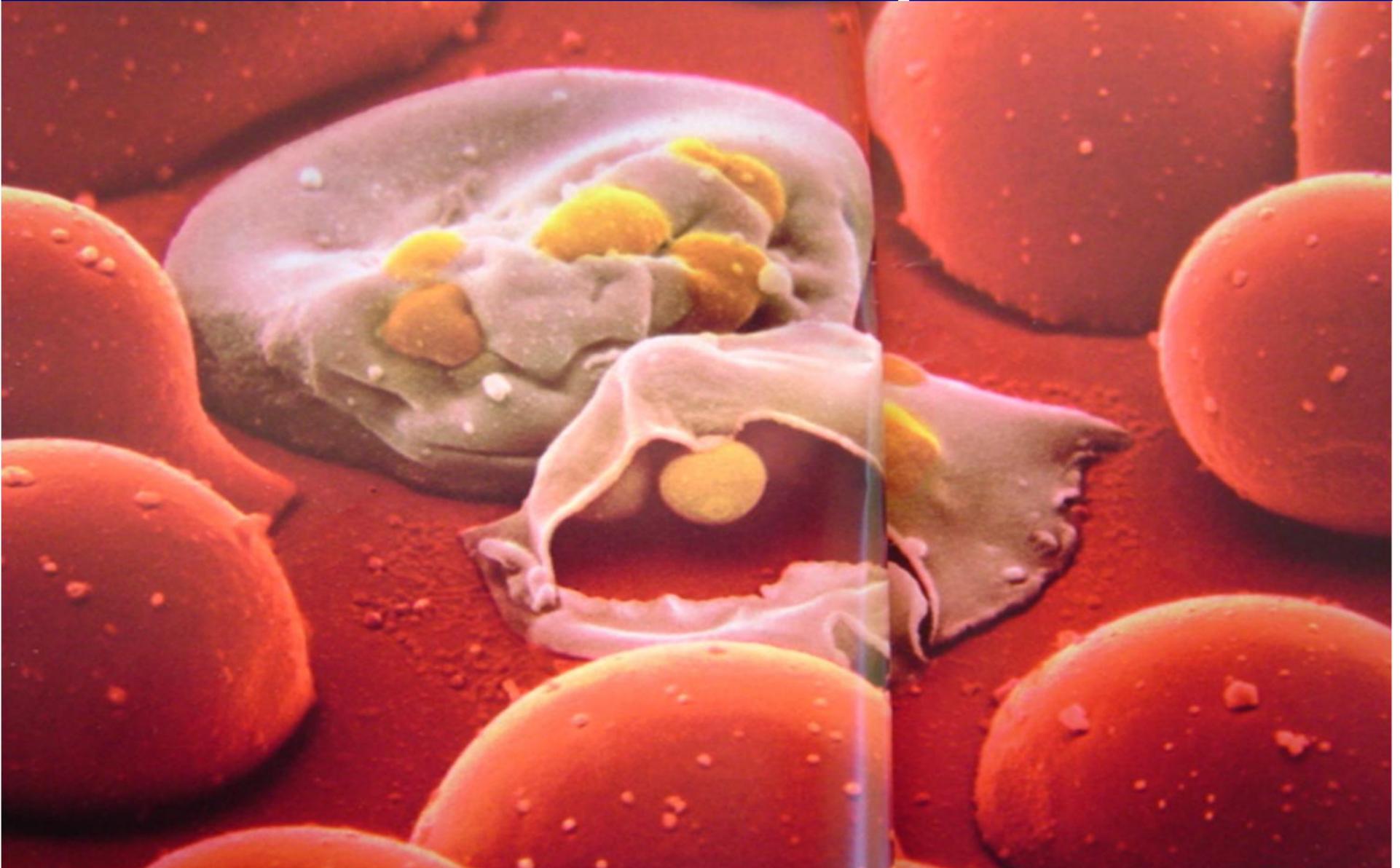


713

11 X (ABOVE) AND 11,500 X; BOTH © LENNART NILSSON



# Eritrocito con esporas de *Plasmodium falciparum*



# **Inmunidad mediada por anticuerpos**

## **Linfocitos B**

**Producción y secreción de  
Inmunoglobulinas**

**IgM**

**IgA**

**IgG**

**IgE**

# Linfocito B

Figure 6-6. The cellular basis of the antibody response. Note how some IgG is made in the primary immune response while a little IgM is made in a secondary immune response.

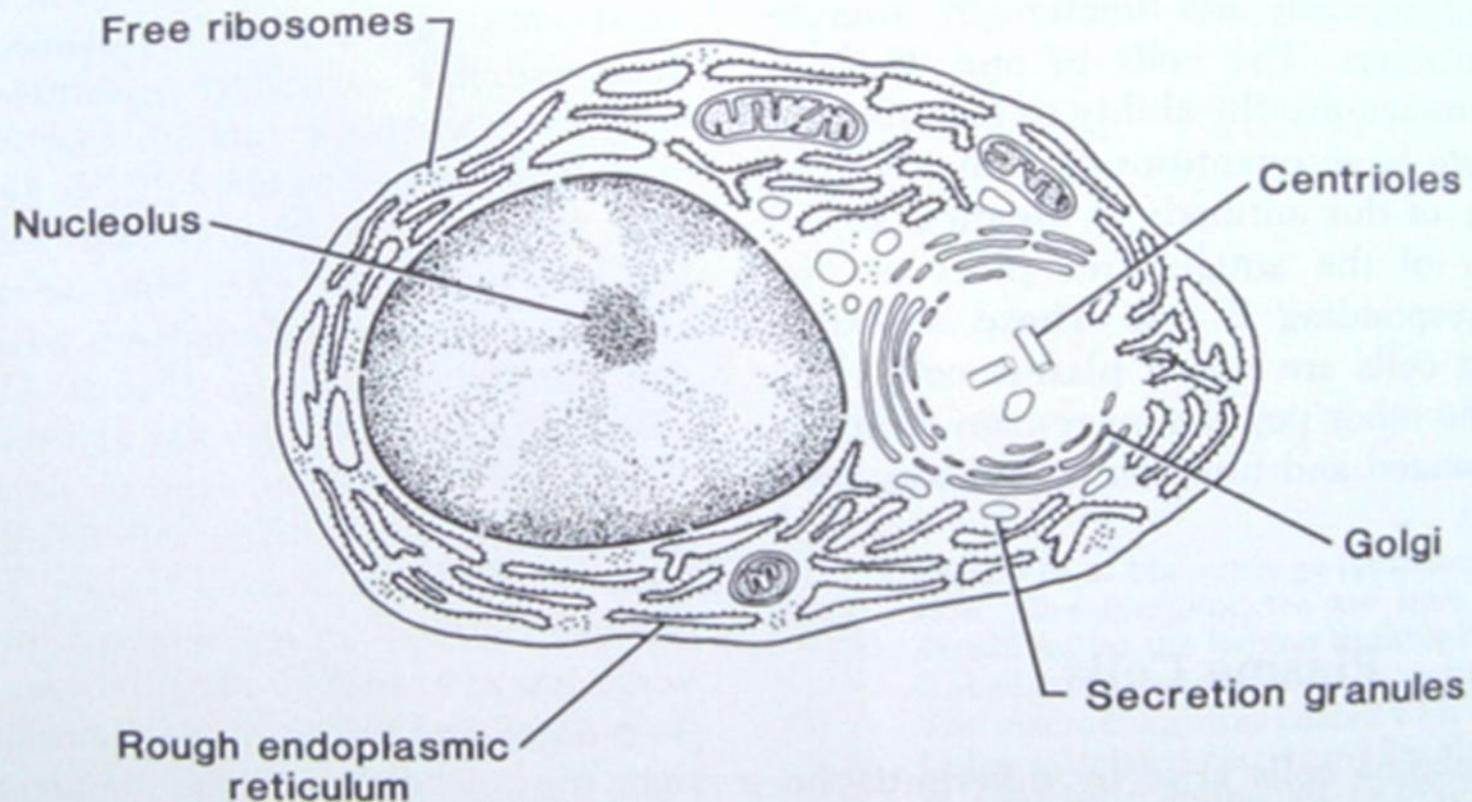


Figure 6-7. The structure of a typical plasma cell. The possession of an extensive rough endoplasmic reticulum is typical of a cell dedicated to massive protein synthesis.

# Linfocito T

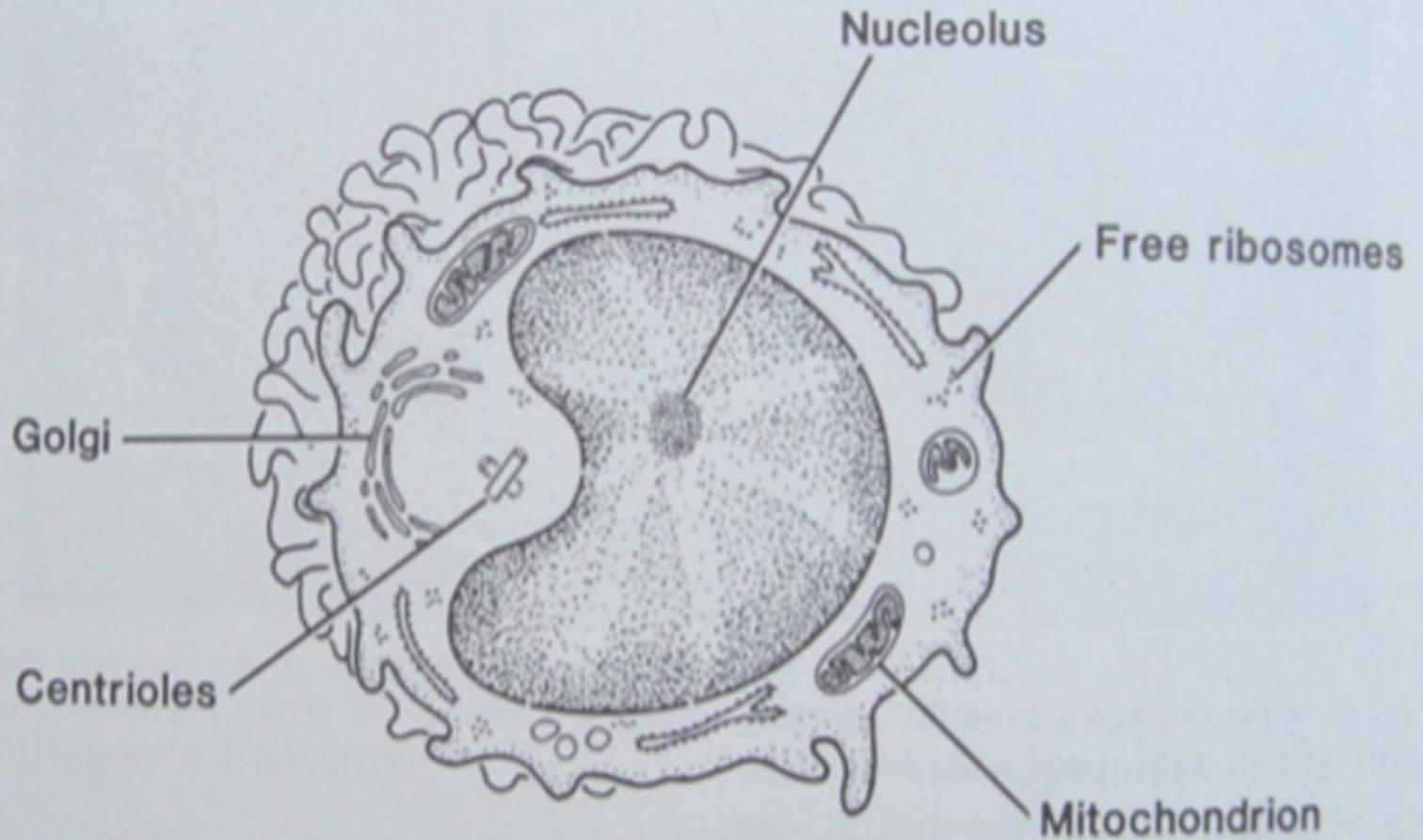
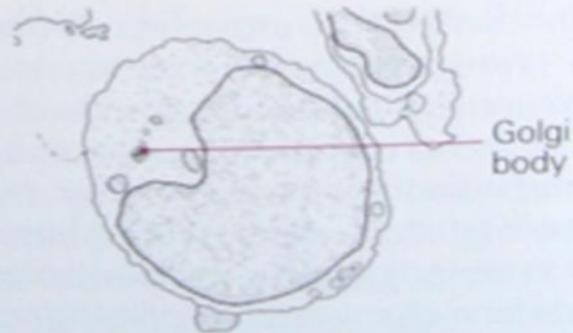
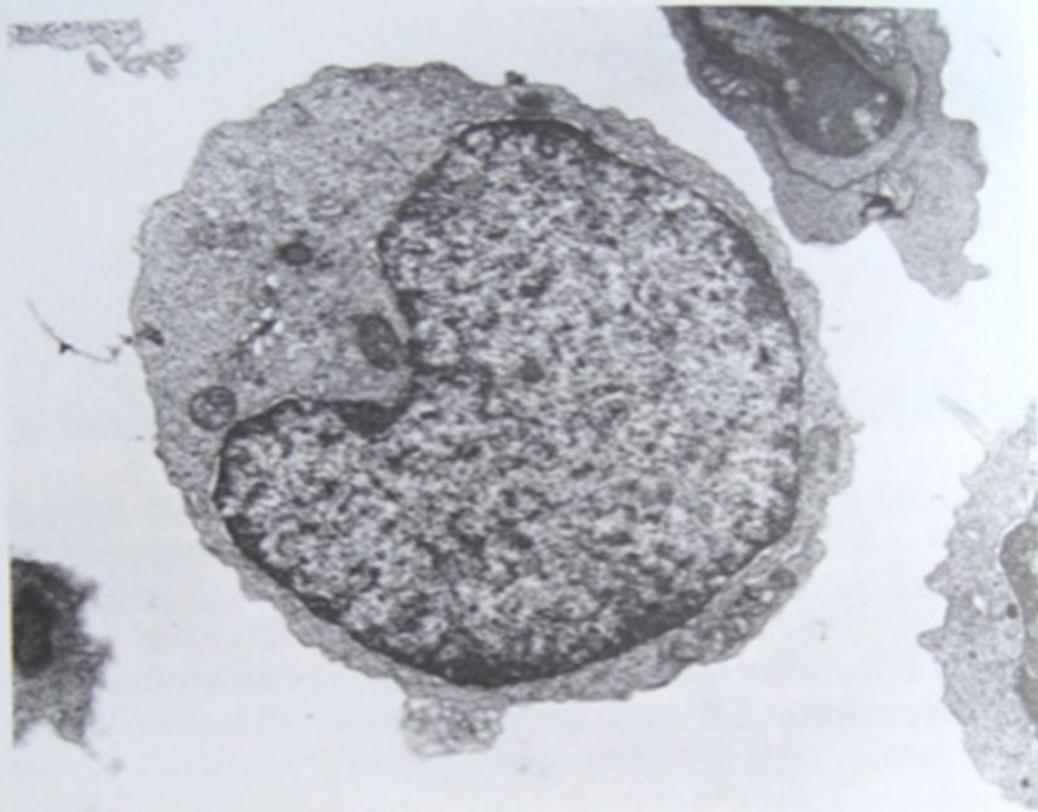
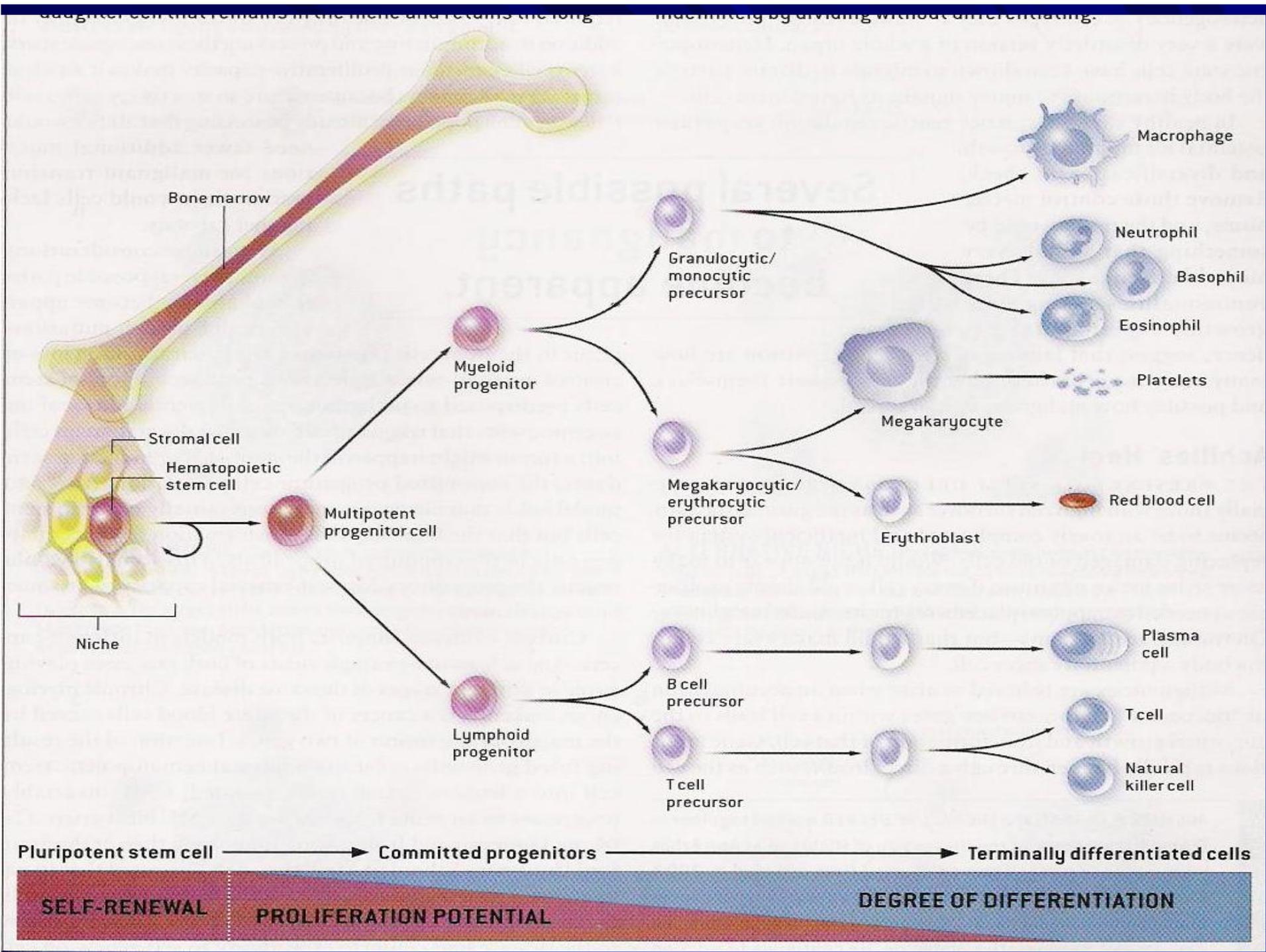


Figure 5-8. The structure of a typical lymphocyte. Remember T cells and B cells look identical.

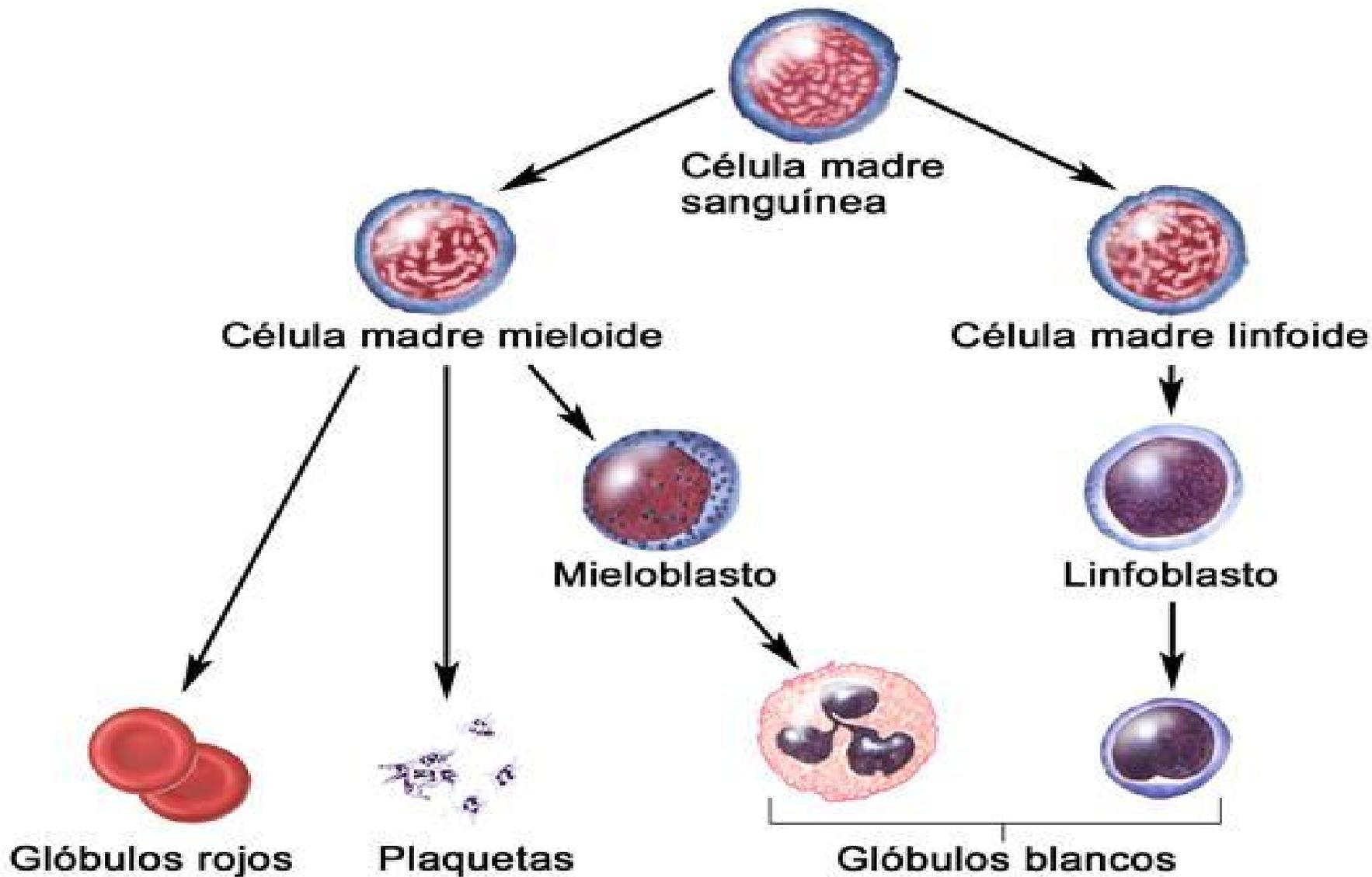


**Fig. 2.14 Electron micrograph showing the ultrastructure of B cell blasts.** The main feature of activated B cells is the development of the machinery for immunoglobulin synthesis. This includes smooth and rough endoplasmic reticulum, free ribosomes, and the Golgi

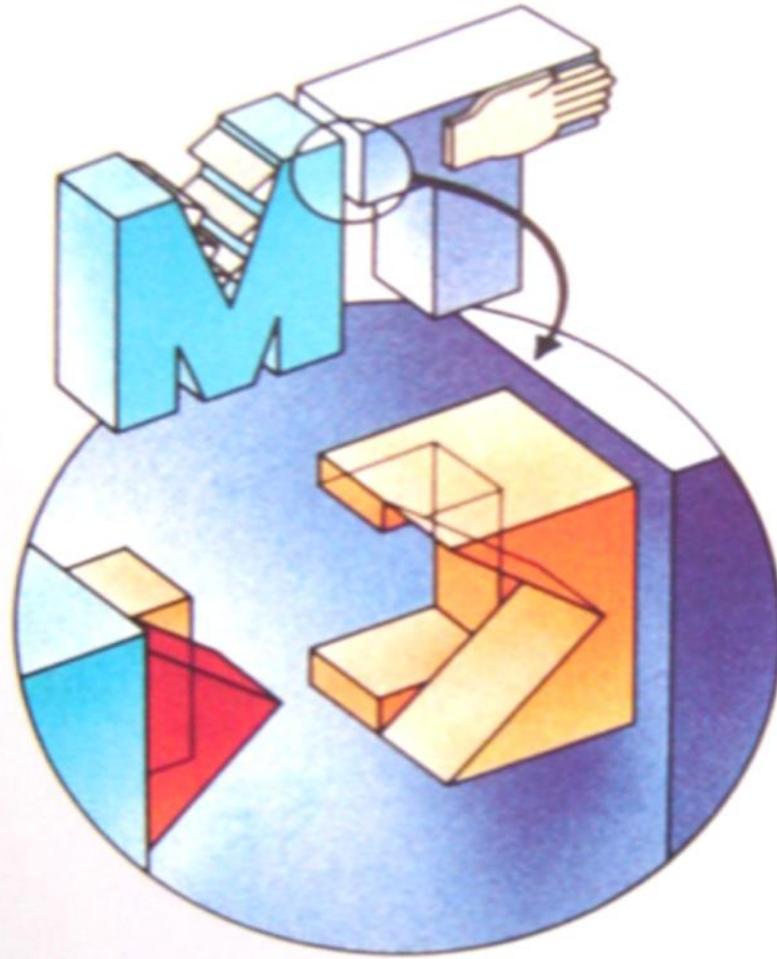


# Las células madre precursoras

## El principio de todo



# La Respuesta Inmune



*The vital union that activates a helper T cell takes place only when the T cell recognizes both a "self" marker (rectangle) and a "nonself" antigen (triangle) on a macrophage.*

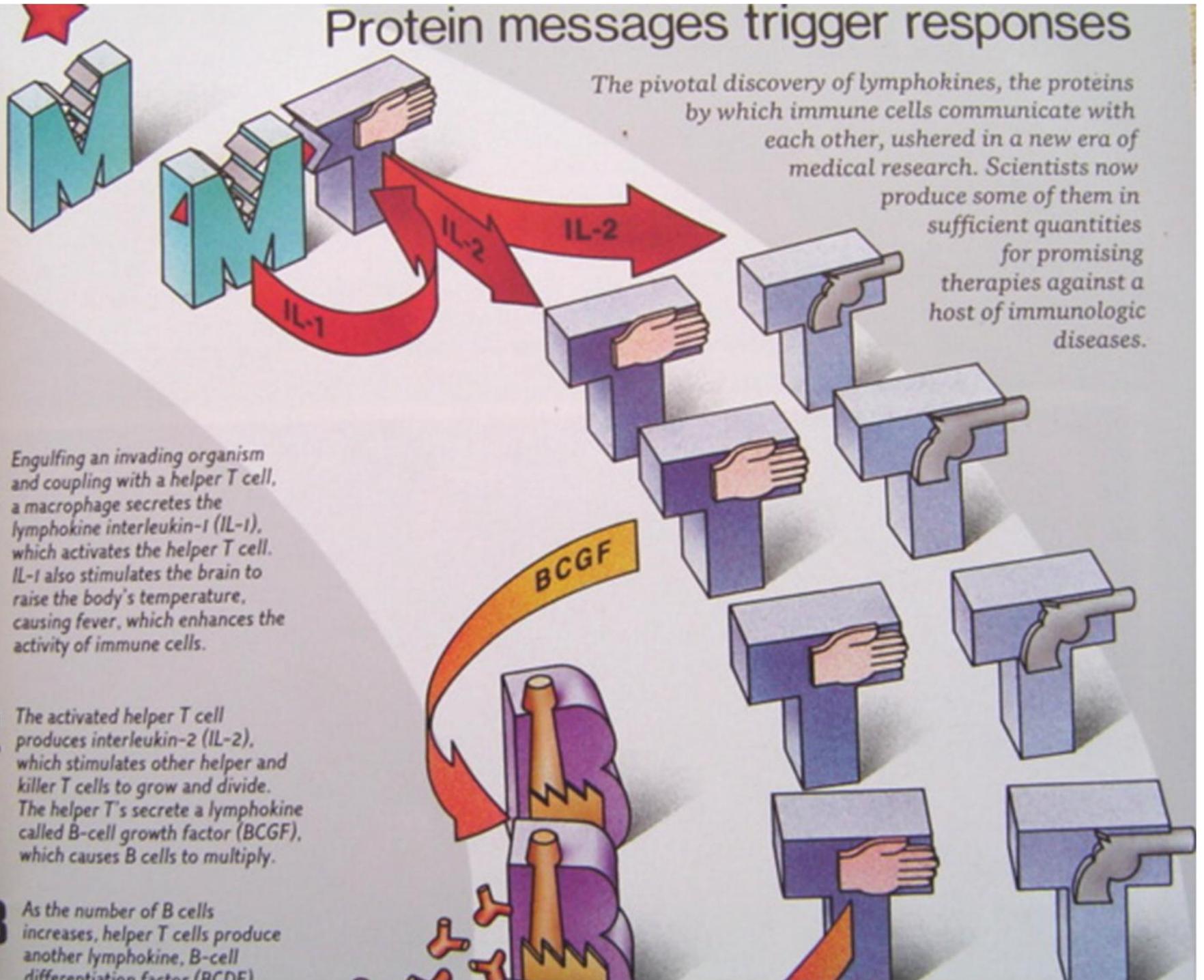
# Protein messages trigger responses

The pivotal discovery of lymphokines, the proteins by which immune cells communicate with each other, ushered in a new era of medical research. Scientists now produce some of them in sufficient quantities for promising therapies against a host of immunologic diseases.

**1** Engulfing an invading organism and coupling with a helper T cell, a macrophage secretes the lymphokine interleukin-1 (IL-1), which activates the helper T cell. IL-1 also stimulates the brain to raise the body's temperature, causing fever, which enhances the activity of immune cells.

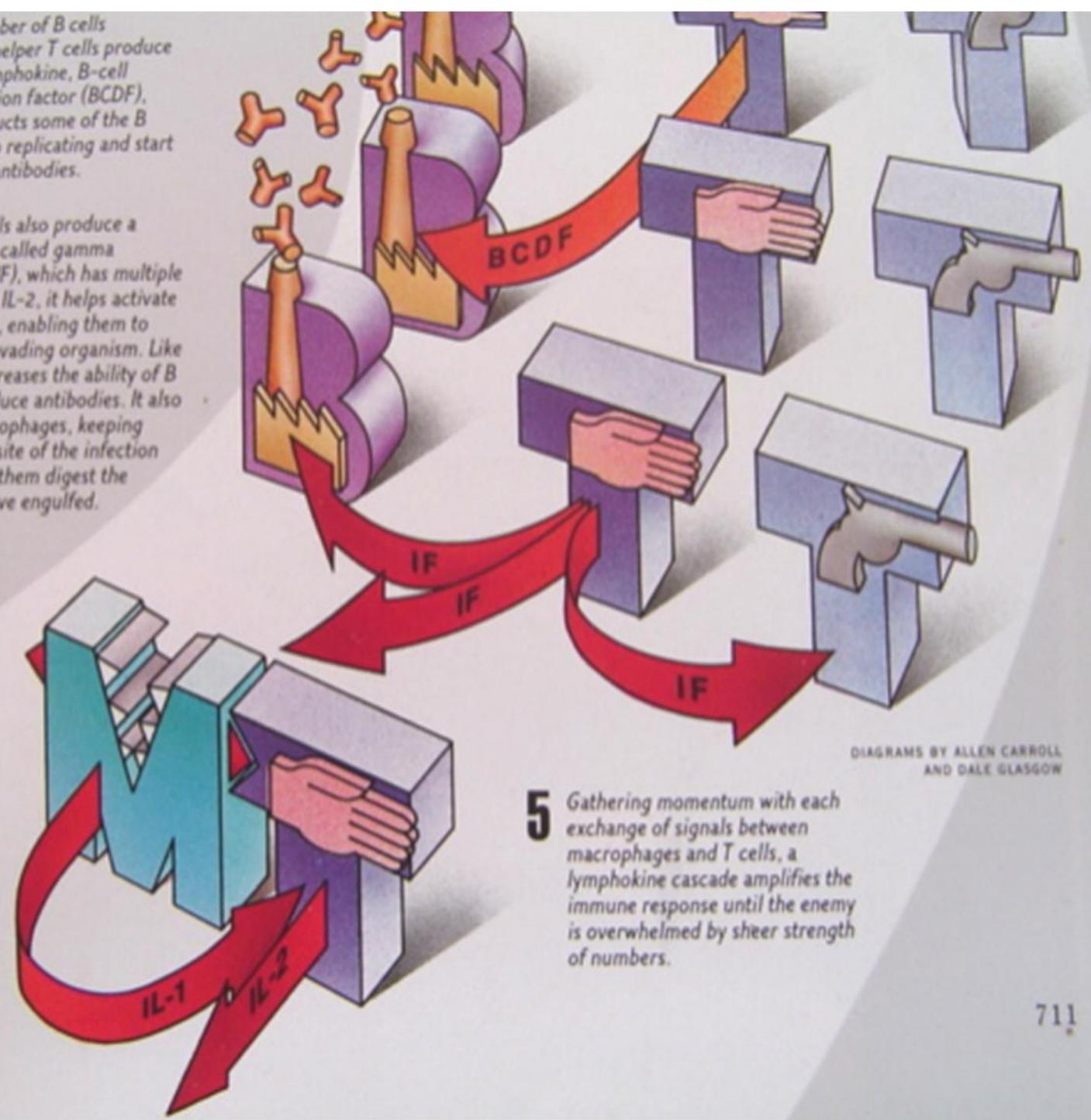
**2** The activated helper T cell produces interleukin-2 (IL-2), which stimulates other helper and killer T cells to grow and divide. The helper T's secrete a lymphokine called B-cell growth factor (BCGF), which causes B cells to multiply.

**3** As the number of B cells increases, helper T cells produce another lymphokine, B-cell differentiation factor (BCDF).



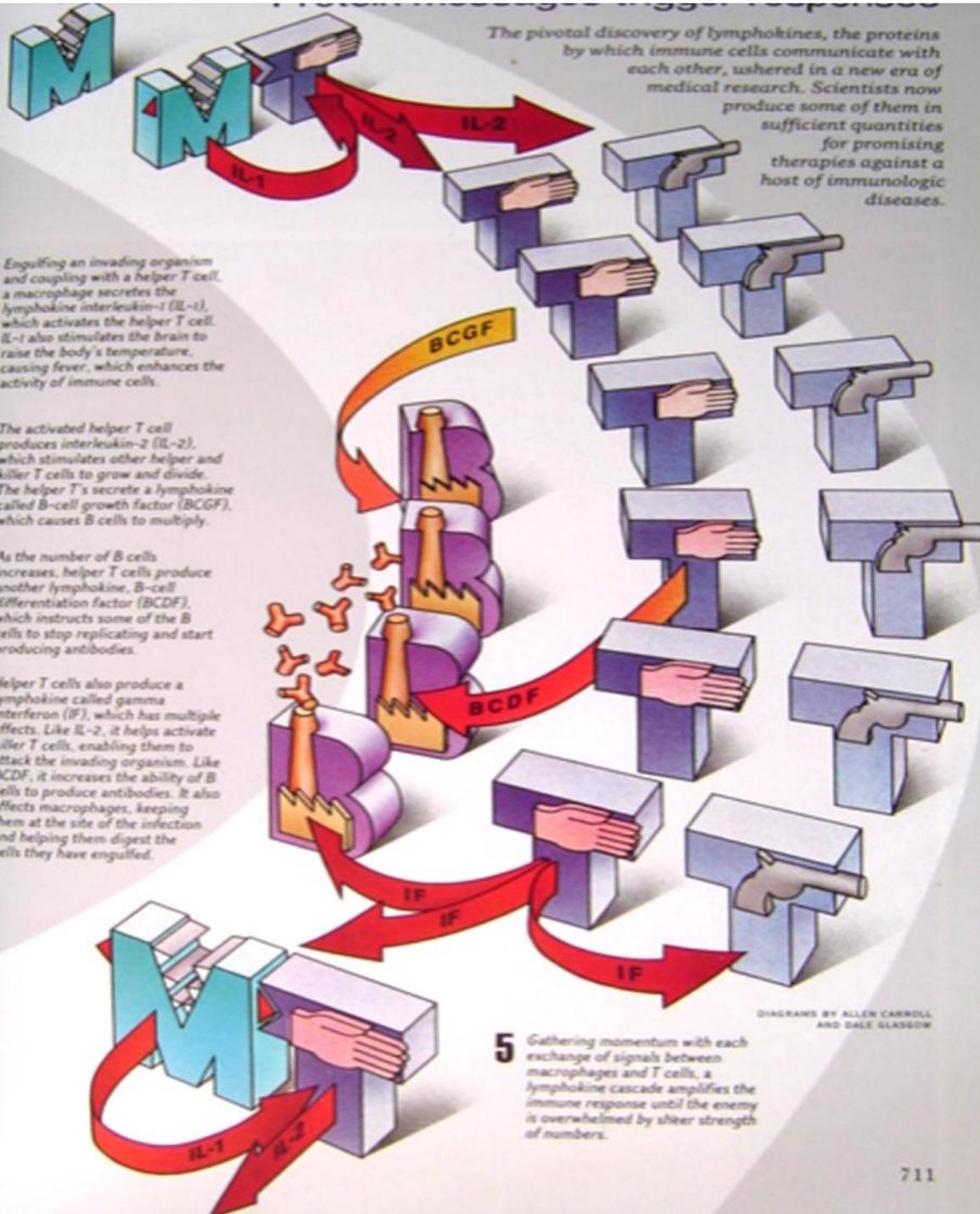
Lewis Thomas and viruses. Not they stalk us in the familiar streptococci, continuously seeking access to the bloodstream, the cause so potent that it is enough to kill a parasite transmitted through blood cells and afflict 150 million people each year. It is both the simple and the complex, a coated bundle of chemical copies of genetic machinery for a virus to live. That bundle of genetic material, issuing its own instructions for producing new cells, killing the cell, killing the cell. Mizel of Wake Forest University, June 1988

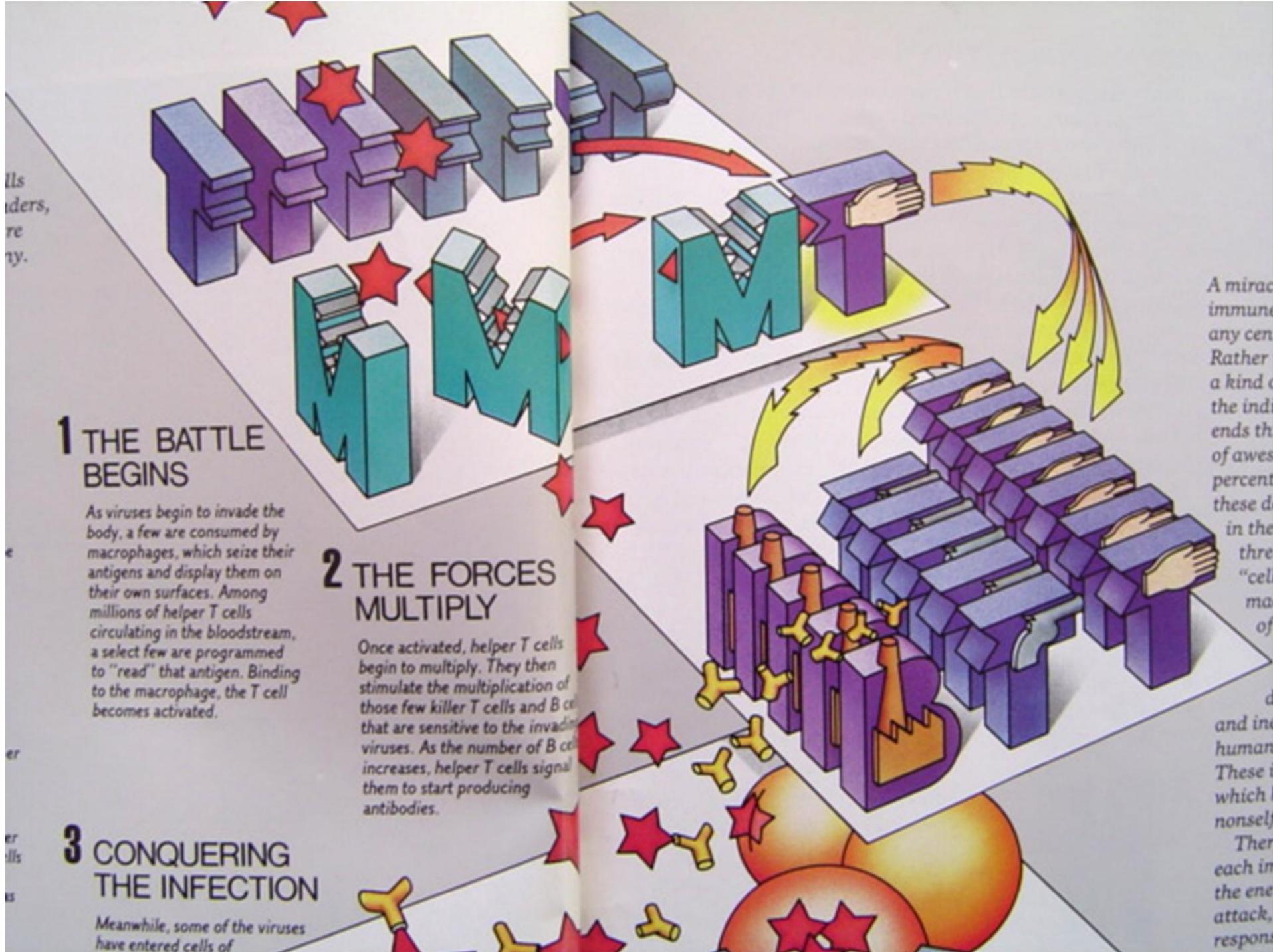
- 3** As the number of B cells increases, helper T cells produce another lymphokine, B-cell differentiation factor (BCDF), which instructs some of the B cells to stop replicating and start producing antibodies.
- 4** Helper T cells also produce a lymphokine called gamma interferon (IF), which has multiple effects. Like IL-2, it helps activate killer T cells, enabling them to attack the invading organism. Like BCDF, it increases the ability of B cells to produce antibodies. It also affects macrophages, keeping them at the site of the infection and helping them digest the cells they have engulfed.



DIAGRAMS BY ALLEN CARROLL AND DALE GLASGOW

- 5** Gathering momentum with each exchange of signals between macrophages and T cells, a lymphokine cascade amplifies the immune response until the enemy is overwhelmed by sheer strength of numbers.





# 1 THE BATTLE BEGINS

As viruses begin to invade the body, a few are consumed by macrophages, which seize their antigens and display them on their own surfaces. Among millions of helper T cells circulating in the bloodstream, a select few are programmed to "read" that antigen. Binding to the macrophage, the T cell becomes activated.

# 2 THE FORCES MULTIPLY

Once activated, helper T cells begin to multiply. They then stimulate the multiplication of those few killer T cells and B cells that are sensitive to the invading viruses. As the number of B cells increases, helper T cells signal them to start producing antibodies.

# 3 CONQUERING THE INFECTION

Meanwhile, some of the viruses have entered cells of

A mirac  
immu  
any cen  
Rather  
a kind o  
the indi  
ends th  
of awes  
percent  
these d  
in the  
thre  
"cell  
ma  
of  
d  
and in  
human  
These i  
which  
nonsely  
Ther  
each in  
the ene  
attack,  
respon

foreign organism, it summons other T cells to the scene.

#### HELPER T CELL

A commander in chief of the immune system, it identifies the enemy and rushes to the spleen and lymph nodes, where it stimulates the production of other cells to fight the infection.

#### KILLER T CELL

Trained and activated by helper T cells, it specializes in killing cells in the body that have been infected by foreign organisms, as well as cells that have turned cancerous.

#### ANTIBODY

A biological arms factory, it resides in the spleen or the lymph nodes. When it is induced to replicate by helper T cells and then to produce chemical weapons called antibodies.

#### ANTIBODY

Designed to target a specific invader, this Y-shaped protein molecule is rushed to the infection site, where it either neutralizes the enemy or tags it for attack by other cells or chemicals.

#### SUPPRESSOR T CELL

A third type of T cell, it is able to slow down or stop the activities of killer T cells and other T cells, playing a role in calling off the attack once an infection has been contained.

#### MEMORY CELL

Generated during an initial infection, this defense cell may circulate in the blood or lymph for years, enabling the body to respond more quickly to subsequent infections.

millions of helper T cells circulating in the bloodstream, a select few are programmed to "read" that antigen. Binding to the macrophage, the T cell becomes activated.

Once activated, helper T cells begin to multiply. They then stimulate the multiplication of those few killer T cells and B cells that are sensitive to the invading viruses. As the number of B cells increases, helper T cells signal them to start producing antibodies.

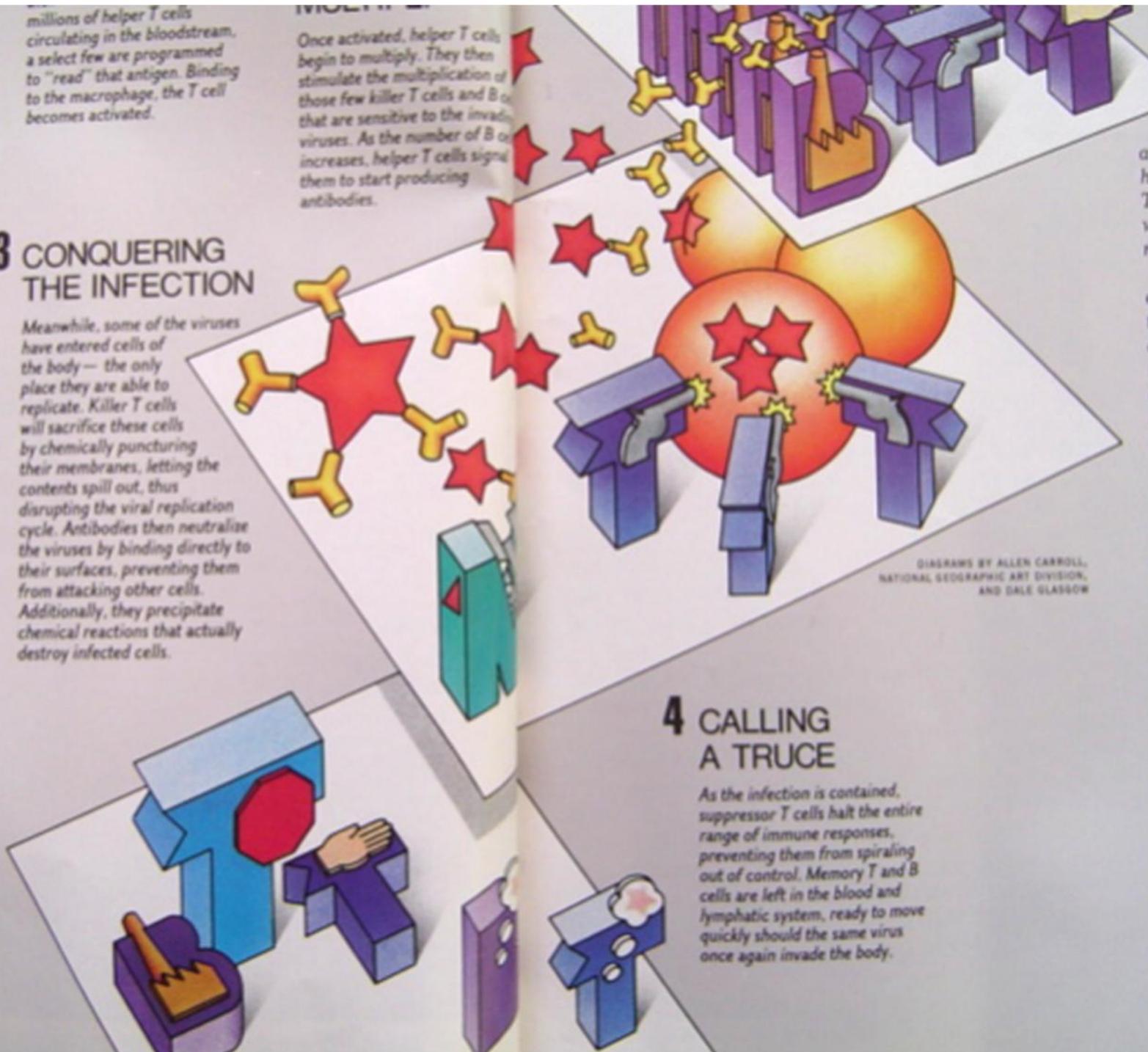
### 3 CONQUERING THE INFECTION

Meanwhile, some of the viruses have entered cells of the body—the only place they are able to replicate. Killer T cells will sacrifice these cells by chemically puncturing their membranes, letting the contents spill out, thus disrupting the viral replication cycle. Antibodies then neutralize the viruses by binding directly to their surfaces, preventing them from attacking other cells. Additionally, they precipitate chemical reactions that actually destroy infected cells.

### 4 CALLING A TRUCE

As the infection is contained, suppressor T cells halt the entire range of immune responses, preventing them from spiraling out of control. Memory T and B cells are left in the blood and lymphatic system, ready to move quickly should the same virus once again invade the body.

DIAGRAMS BY ALLEN CARROLL,  
NATIONAL GEOGRAPHIC ART DIVISION,  
AND DALE GLASSON



in a typical battle...



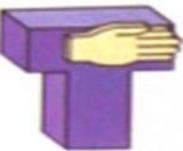
#### VIRUS

Needing help to spring to life, a virus is little more than a package of genetic information that must commandeer the machinery of a host cell to permit its own replication.



#### MACROPHAGE

Housekeeper and frontline defender, this cell engulfs and digests debris that washes into the bloodstream. Encountering a foreign organism, it summons helper T cells to the scene.



#### HELPER T CELL

As a commander in chief of the immune system, it identifies the enemy and rushes to the spleen and lymph nodes, where it stimulates the production of other cells to fight the infection.



#### KILLER T CELL

Recruited and activated by helper T cells, it specializes in killing cells of the body that have been invaded by foreign organisms, as well as cells that have turned cancerous.



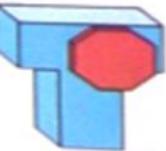
#### B CELL

Biologic arms factory, it resides in the spleen or the lymph nodes, where it is induced to replicate by helper T cells and then to produce potent chemical weapons called antibodies.



#### ANTIBODY

Engineered to target a specific invader, this Y-shaped protein molecule is rushed to the infection site, where it either neutralizes the enemy or tags it for attack by other cells or chemicals.



#### SUPPRESSOR T CELL

A third type of T cell, it is able to slow down or stop the activities of B cells and other T cells, playing a vital role in calling off the attack after an infection has been conquered.



#### MEMORY CELL

Generated during an initial infection, this defense cell may circulate in the blood or lymph for years, enabling the body to respond more quickly to subsequent infections.

## 1 THE BATTLE BEGINS

As viruses begin to invade the body, a few are consumed by macrophages, which seize their antigens and display them on their own surfaces. Among millions of helper T cells circulating in the bloodstream, a select few are programmed to "read" that antigen. Binding to the macrophage, the T cell becomes activated.

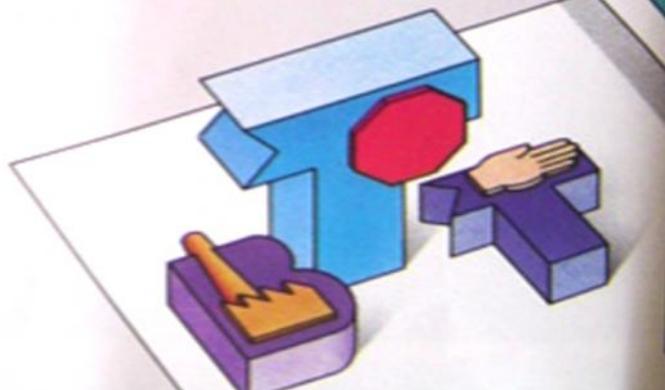


## 2 THE FORCE MULTIPLY

Once activated, helper T cells begin to multiply. They stimulate the multiplication of those few killer T cells that are sensitive to the viruses. As the number increases, helper T cells stimulate them to start producing antibodies.

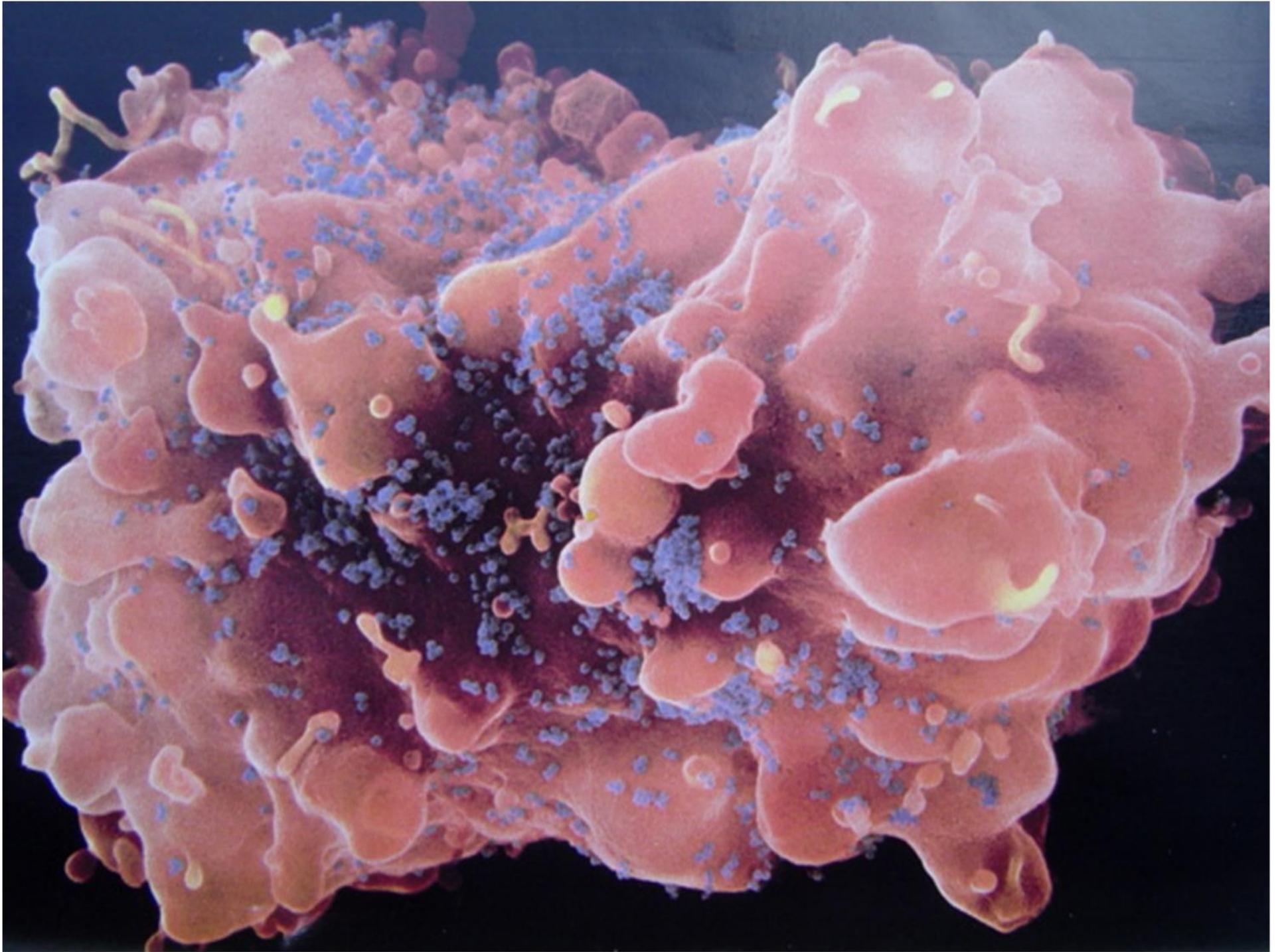
## 3 CONQUERING THE INFECTION

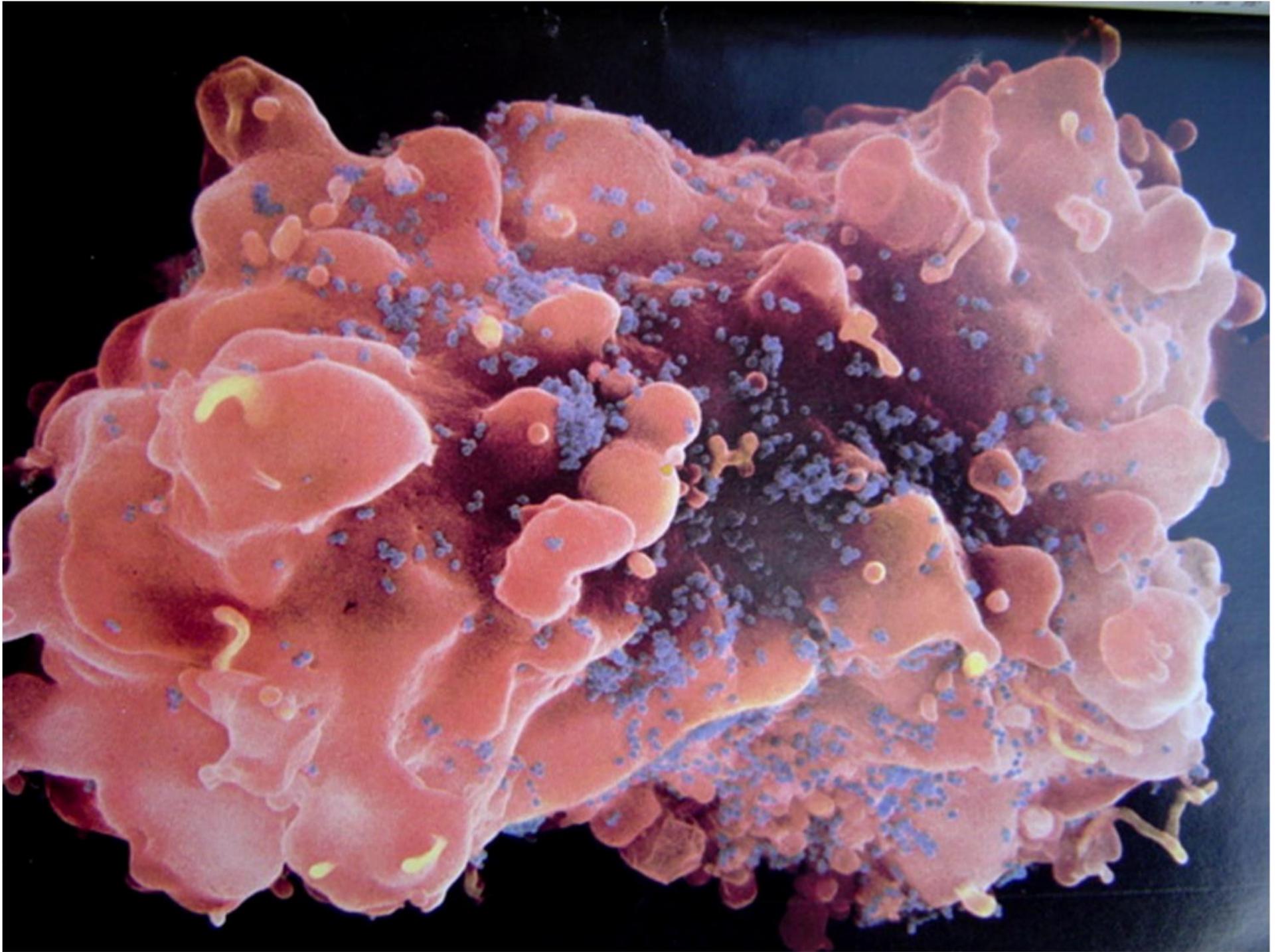
Meanwhile, some of the viruses have entered cells of the body — the only place they are able to replicate. Killer T cells will sacrifice these cells by chemically puncturing their membranes, letting the contents spill out, thus disrupting the viral replication cycle. Antibodies then neutralize the viruses by binding directly to their surfaces, preventing them from attacking other cells. Additionally, they precipitate chemical reactions that actually destroy infected cells.

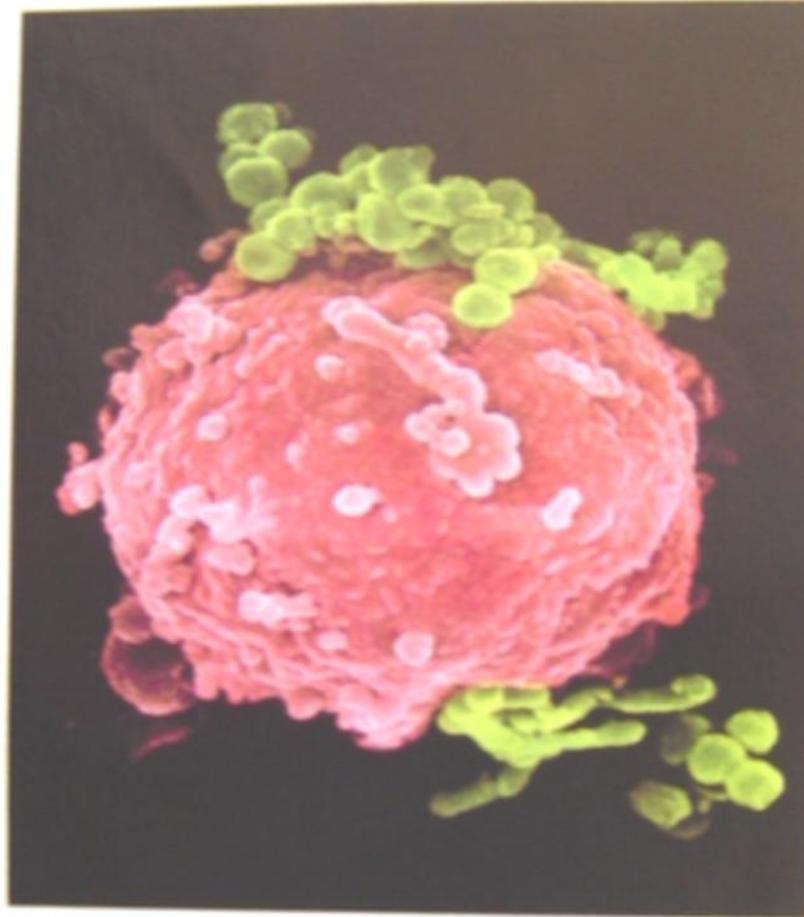


# Existen cuatro fases críticas en cada respuesta inmune:

- 1. Reconocimiento del enemigo/antígeno*
- 2. Amplificación de las defensas*
- 3. Ataque*
- 4. Retirada*







8,500 X © BOEHRINGER INGELHEIM  
INTERNATIONAL, GMBH

*Latecomers in immune-  
system evolution, B cells,  
like this specimen covered  
with bacteria, produce  
armies of antibodies whose  
sole purpose is to attack a  
single kind of pathogen.*

antibody  
atory-  
divides.  
ng healthy  
ancerous  
id cells, or  
vide out of  
ne of them a  
for biologic  
capable of  
fic antigens.  
cins, they  
to destroy  
aving  
ells

Though still  
mental,  
antibodies, as  
l, represent  
ology's most



1,000 X. PHOTOGRAPH © SHIRAZI

**A**T THE NATIONAL INSTITUTES  
Health (NIH) in Bethesda, researchers have  
created another weapon against cancer:  
brigade of man-made killer cells. Now

enough interle  
attacked cancer  
cancer disappe

Rosenberg  
"lymphokine-  
naturally in the  
And, in the cl  
breakthrough  
human patient  
cautioned that

"But I have  
they were dyi

Ironically,  
antibodies and  
achievement o  
ago and with n  
medicine's gre

Edward Jen  
He only knew  
tively mild in  
serious infecti

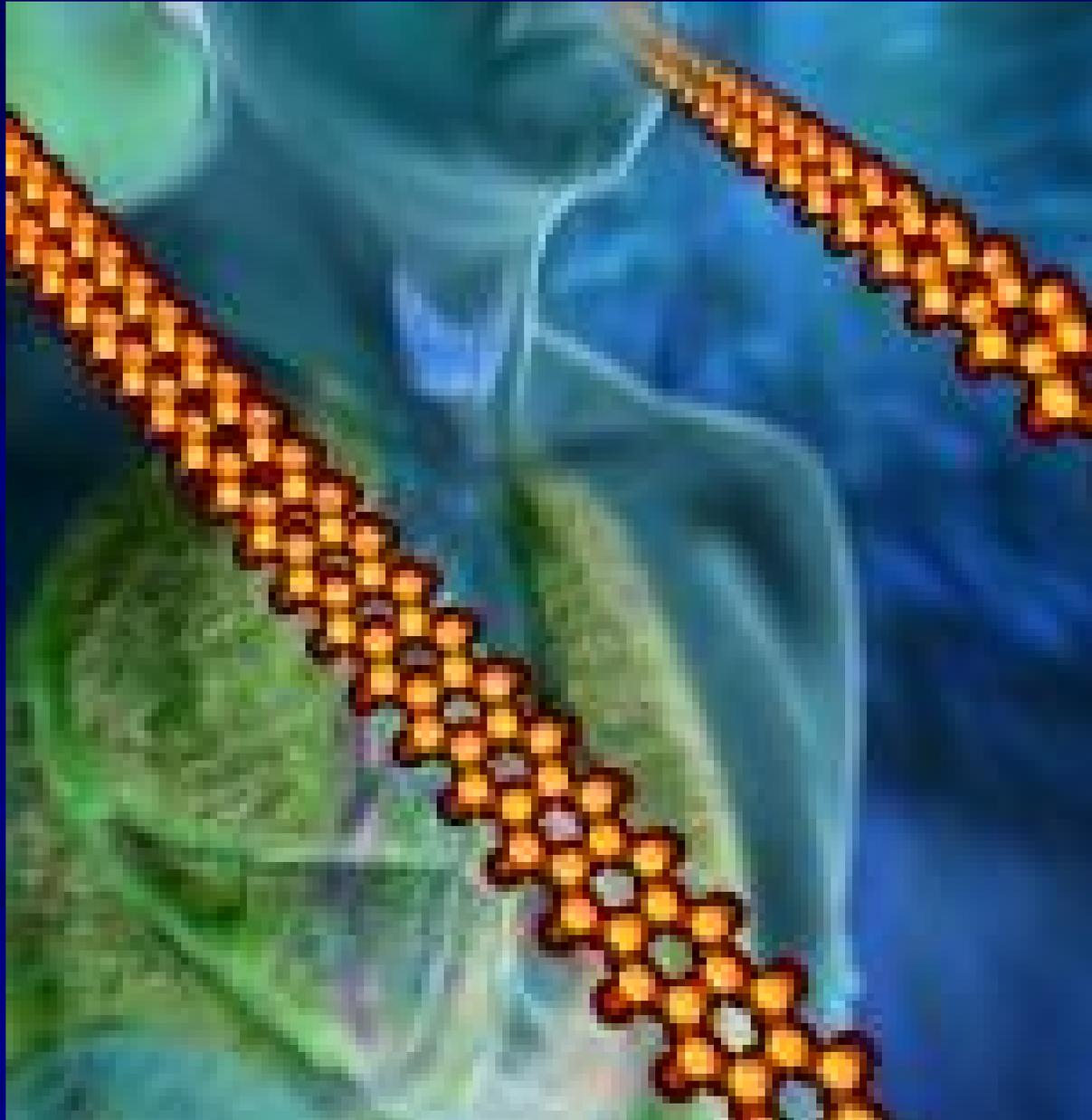


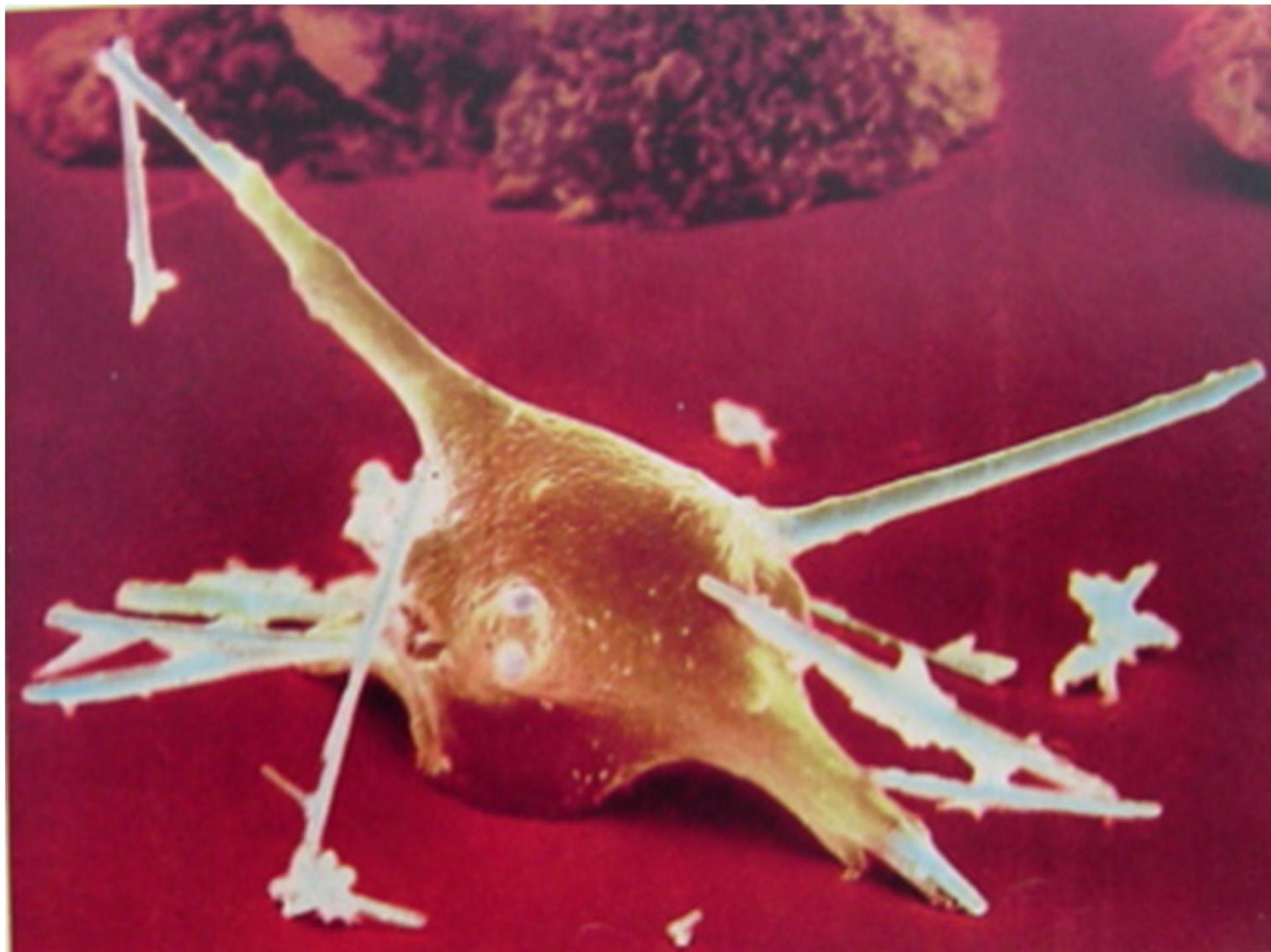


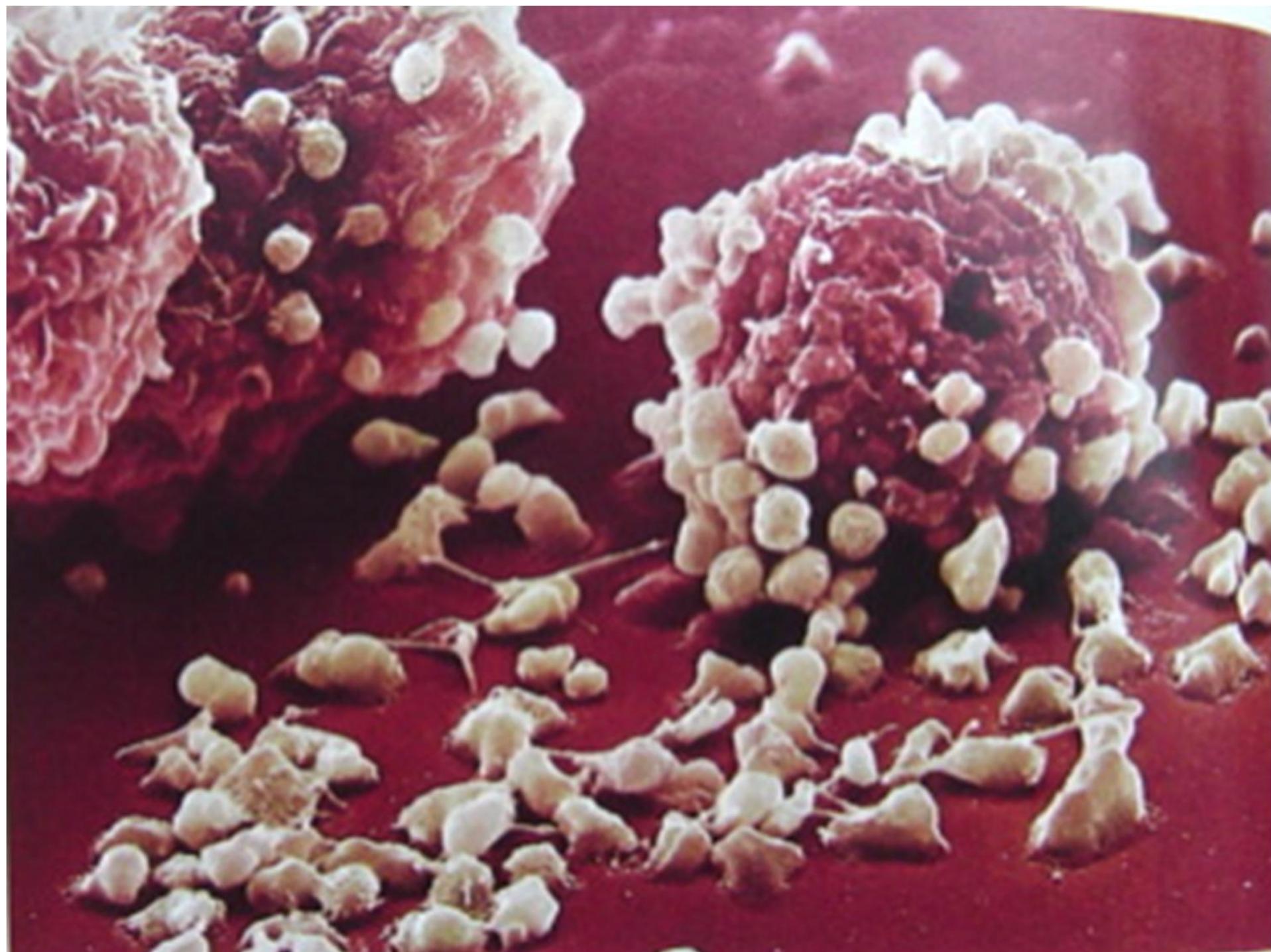
60 X © LENNART NILSSON

*Minute invader, a larva of one of the multicelled parasites called helminths penetrates human skin (above). Entering the*

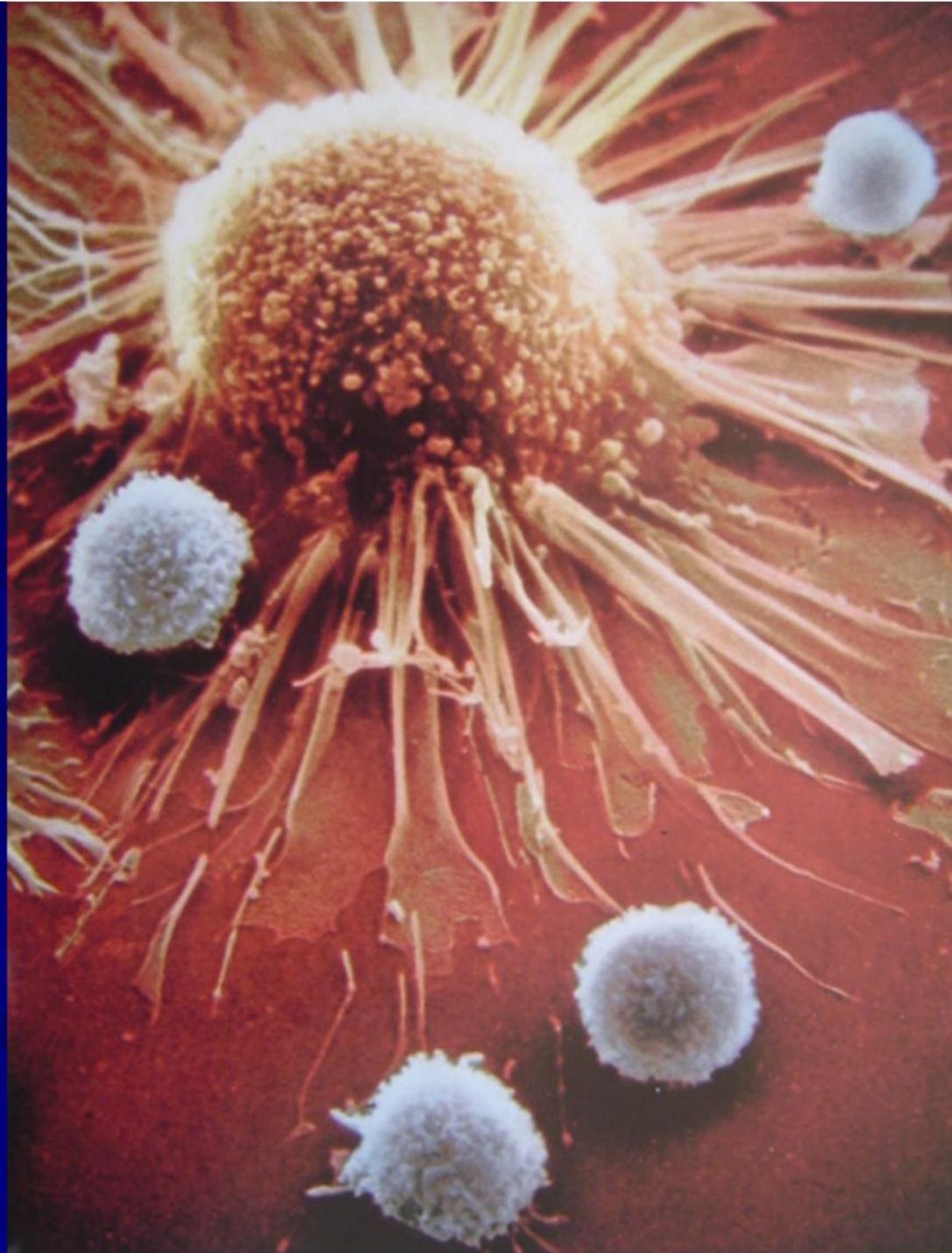
# Asbestosis





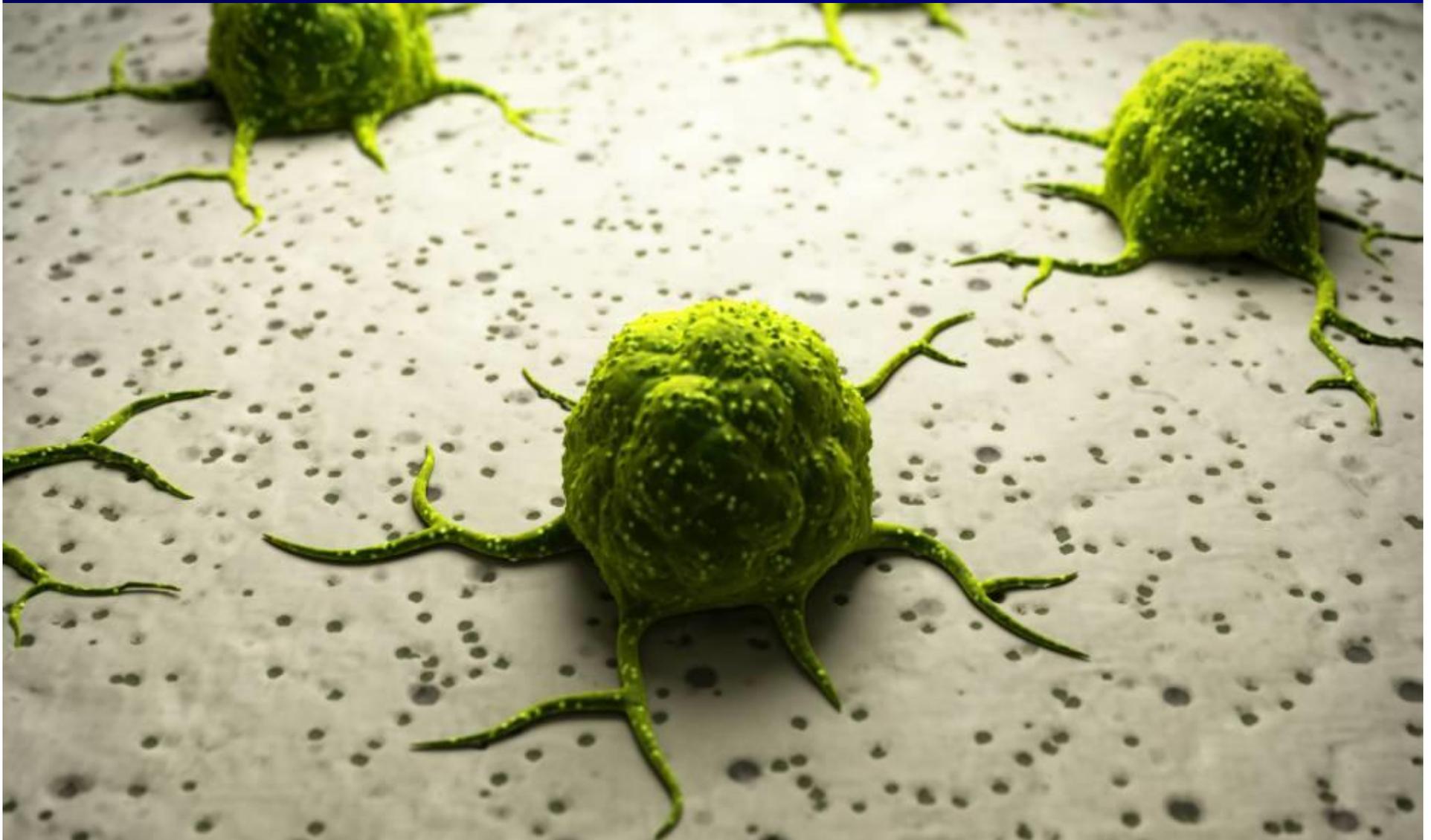


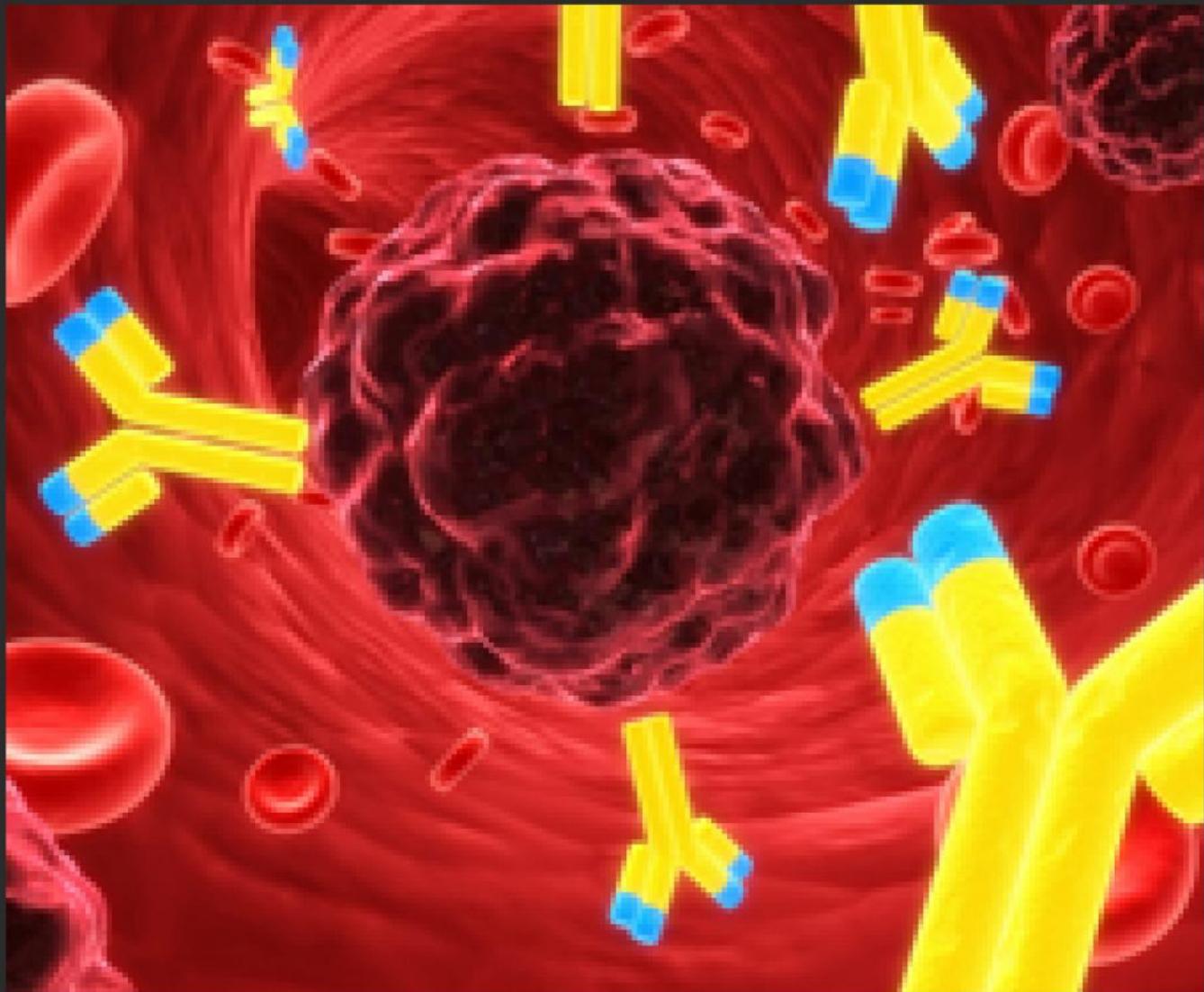


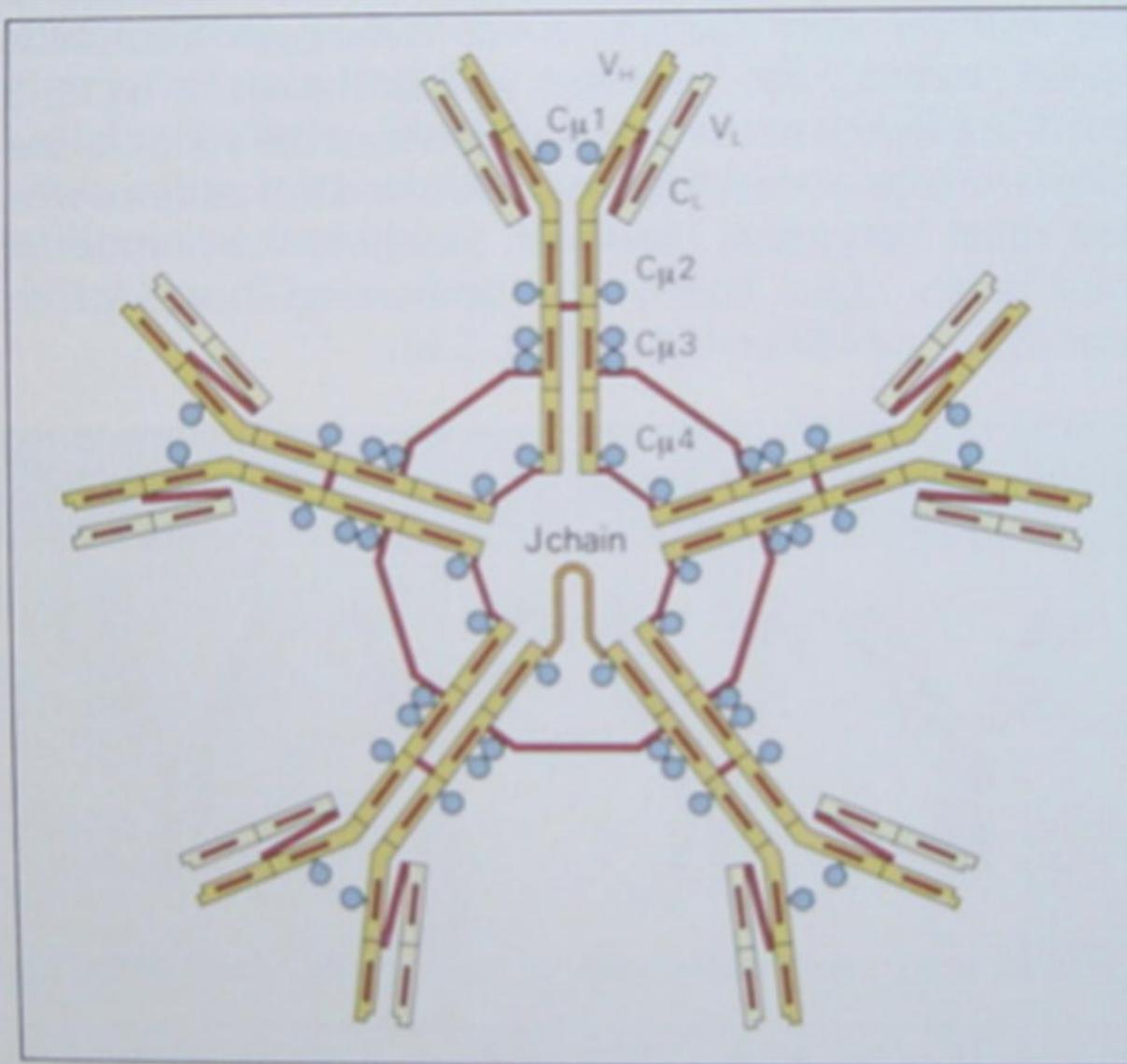




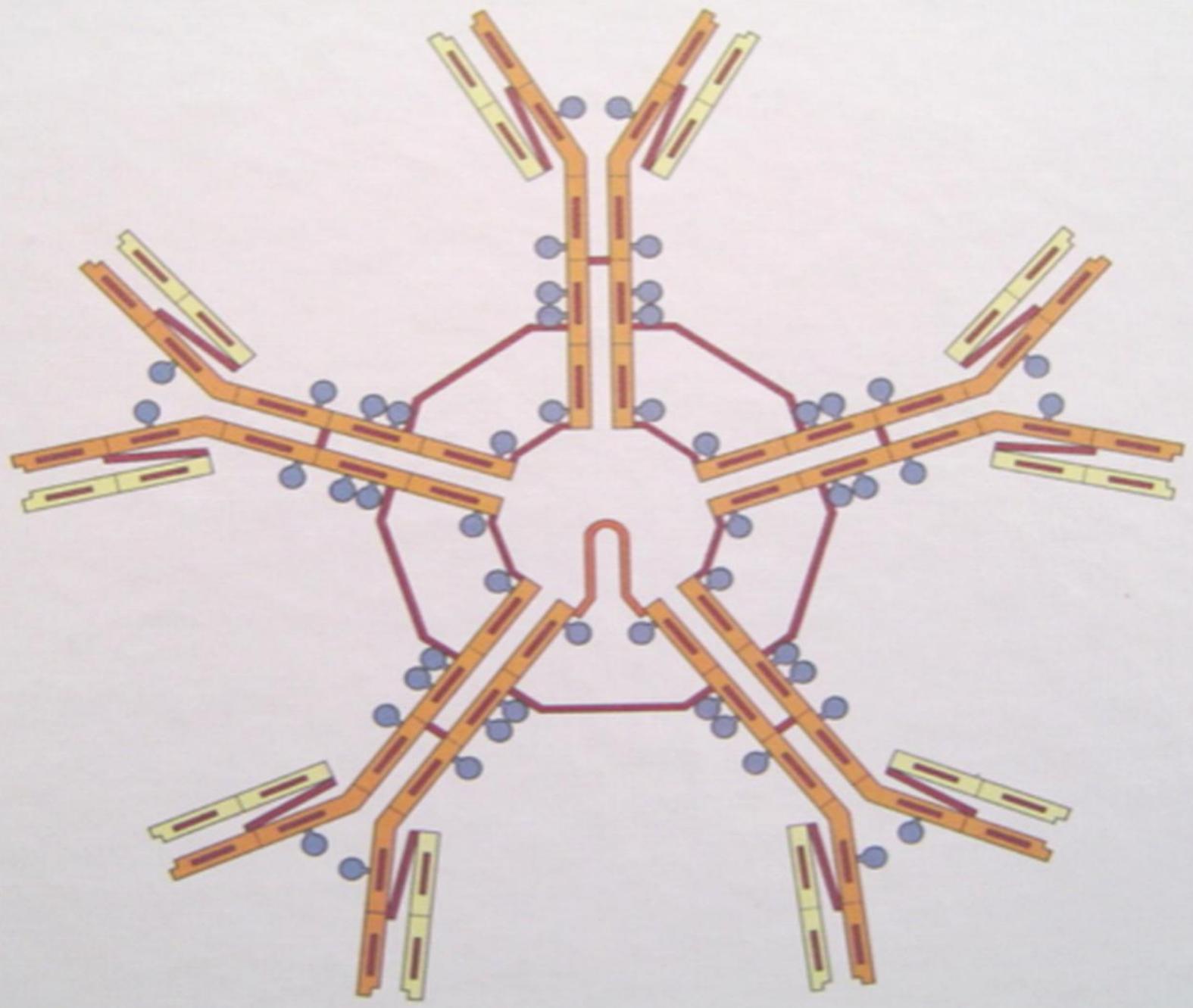
# La técnica CRISPR permite luchar contra las células cancerosas

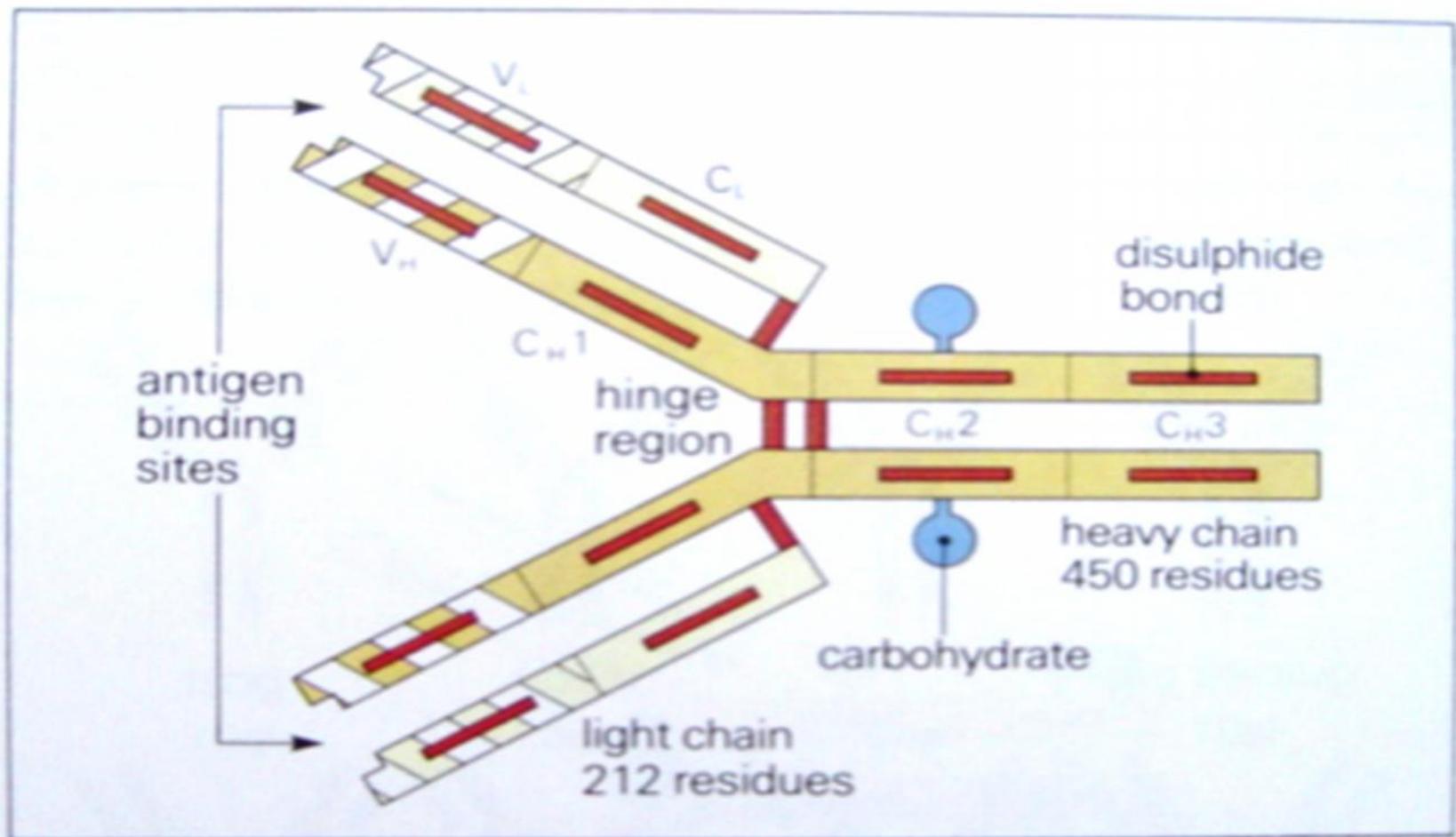




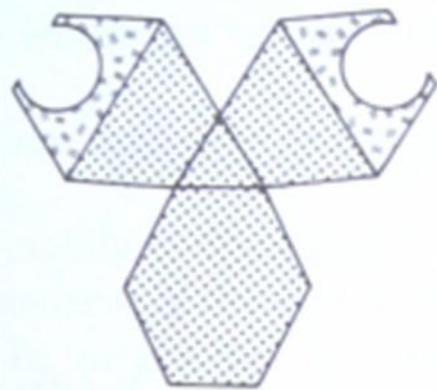


**Fig. 5.8 Pentameric polypeptide chain structure of human IgM.** IgM heavy chains have five domains with disulphide bonds cross-linking adjacent  $C_{H3}$  and  $C_{H4}$  domains of different units. Also shown are the carbohydrate side chains

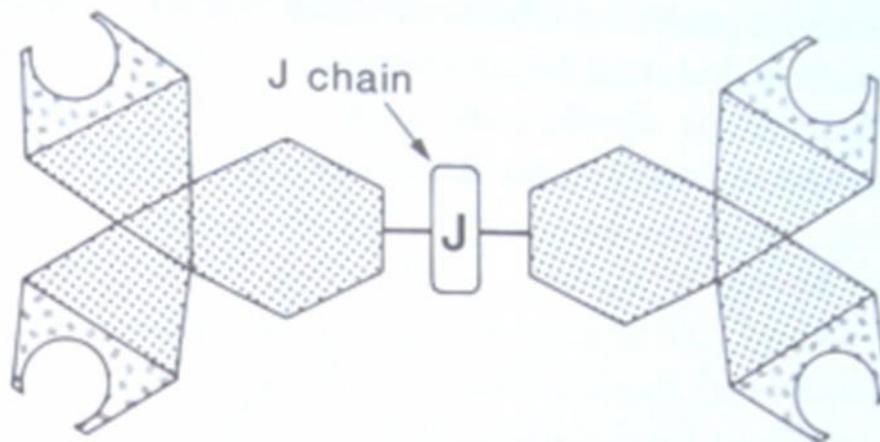




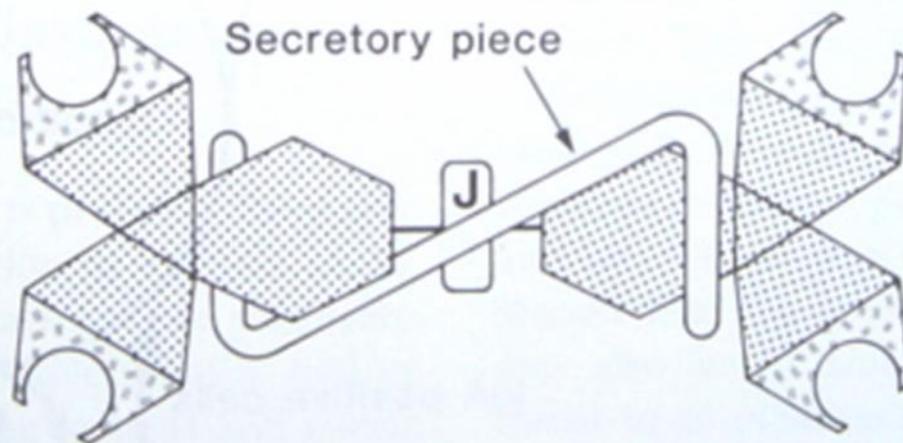
**Fig. 5.5 The basic structure of IgG.** The amino terminal end is characterized by sequence variability (V) in both the heavy (H) and light (L) chains which are referred to as the  $V_H$  and  $V_L$  regions respectively. The rest of the molecule has a relatively constant (C) structure. The constant portion of the light chain is termed



IgA monomer  
7S. M.W. 160,000

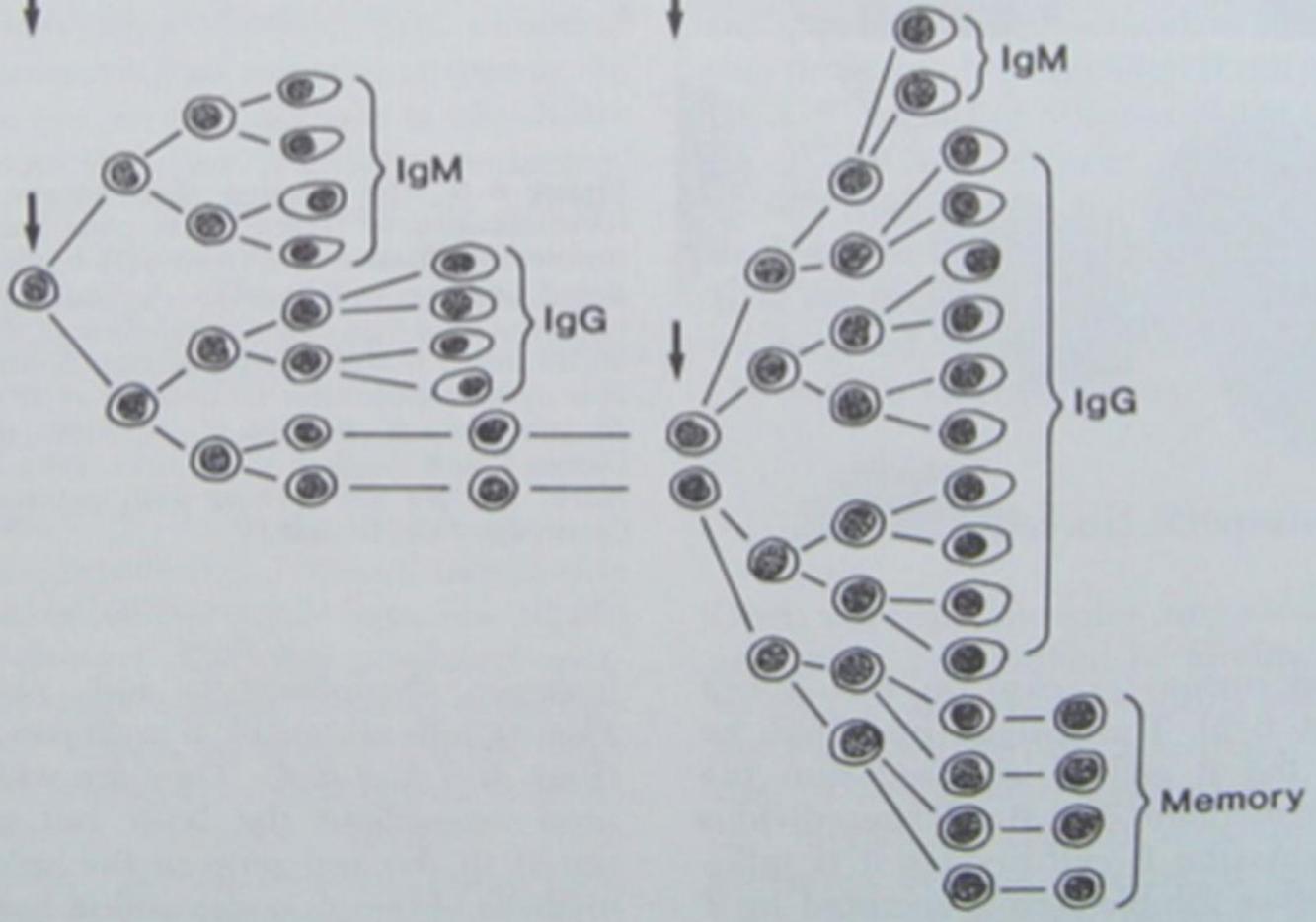
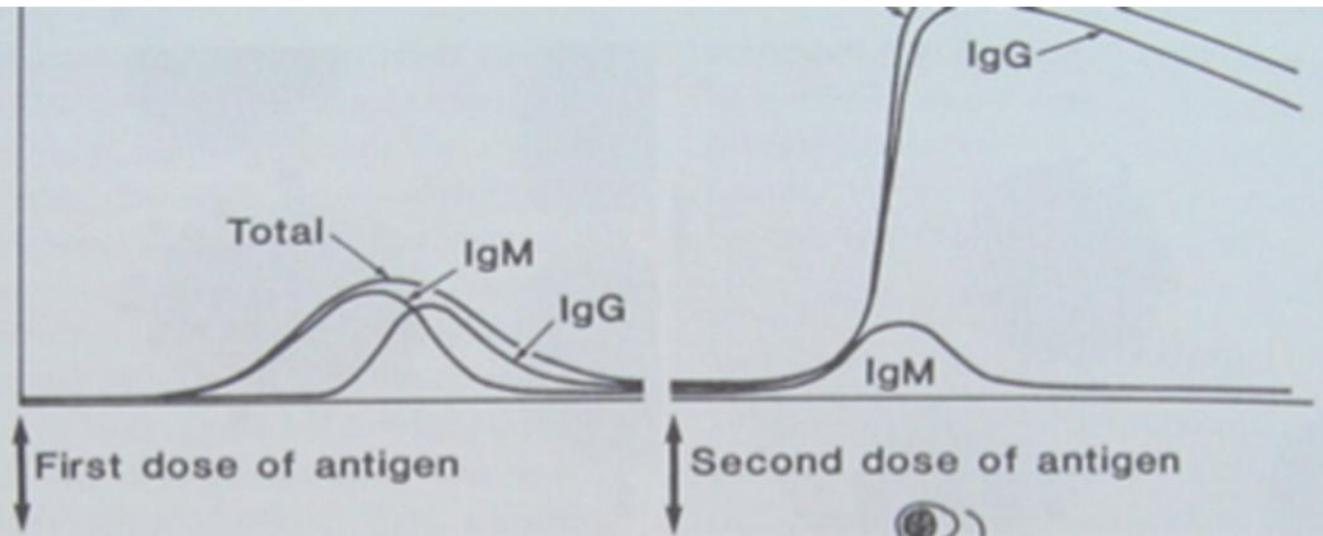


IgA dimer 11S. M.W. 320,000



Secretory IgA (SIgA) 11.4S. M.W. 390,000

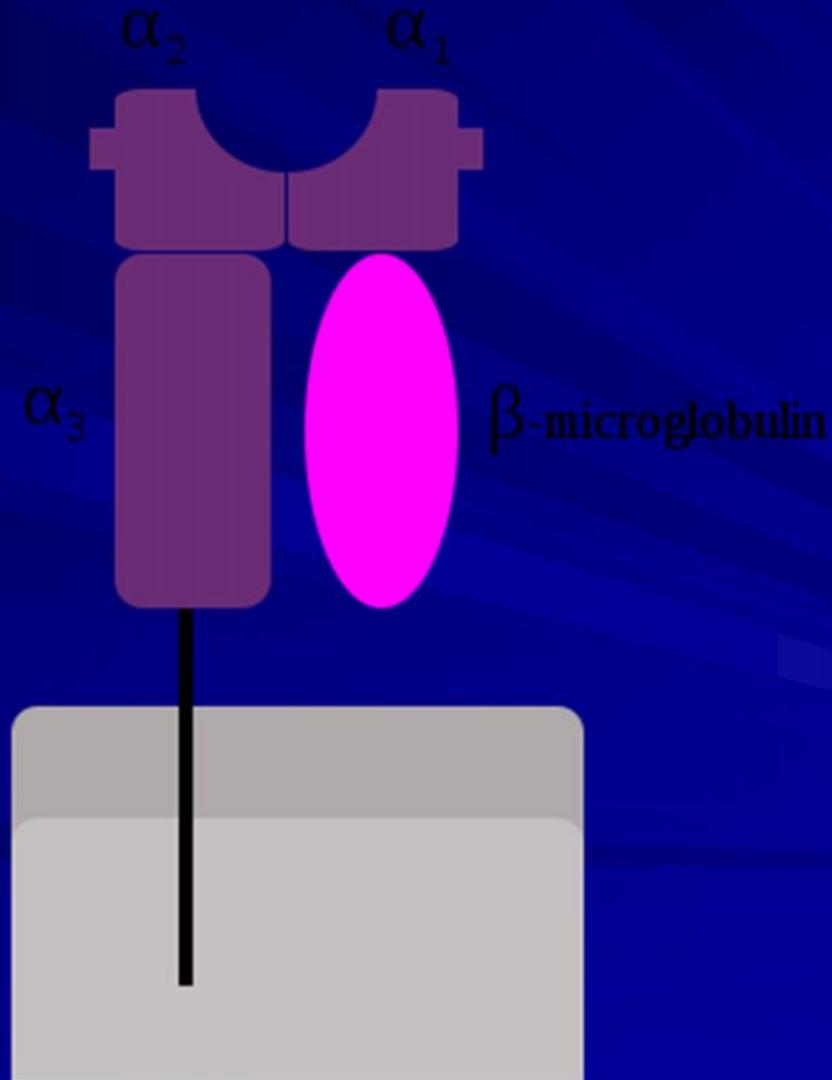
**Figure 12-4.** The structure of monomeric, dimeric and secretory IgA. The secretory piece effectively protects the Fc region of the IgA molecule from proteolytic digestion.



# **Complejo Mayor de Histocompatibilidad**

**CMH es una familia de genes  
ubicados en el brazo derecho  
del cromosoma 6, cuyos  
mediadores están implicados  
en la presentación de  
antígenos a los linfocitos**

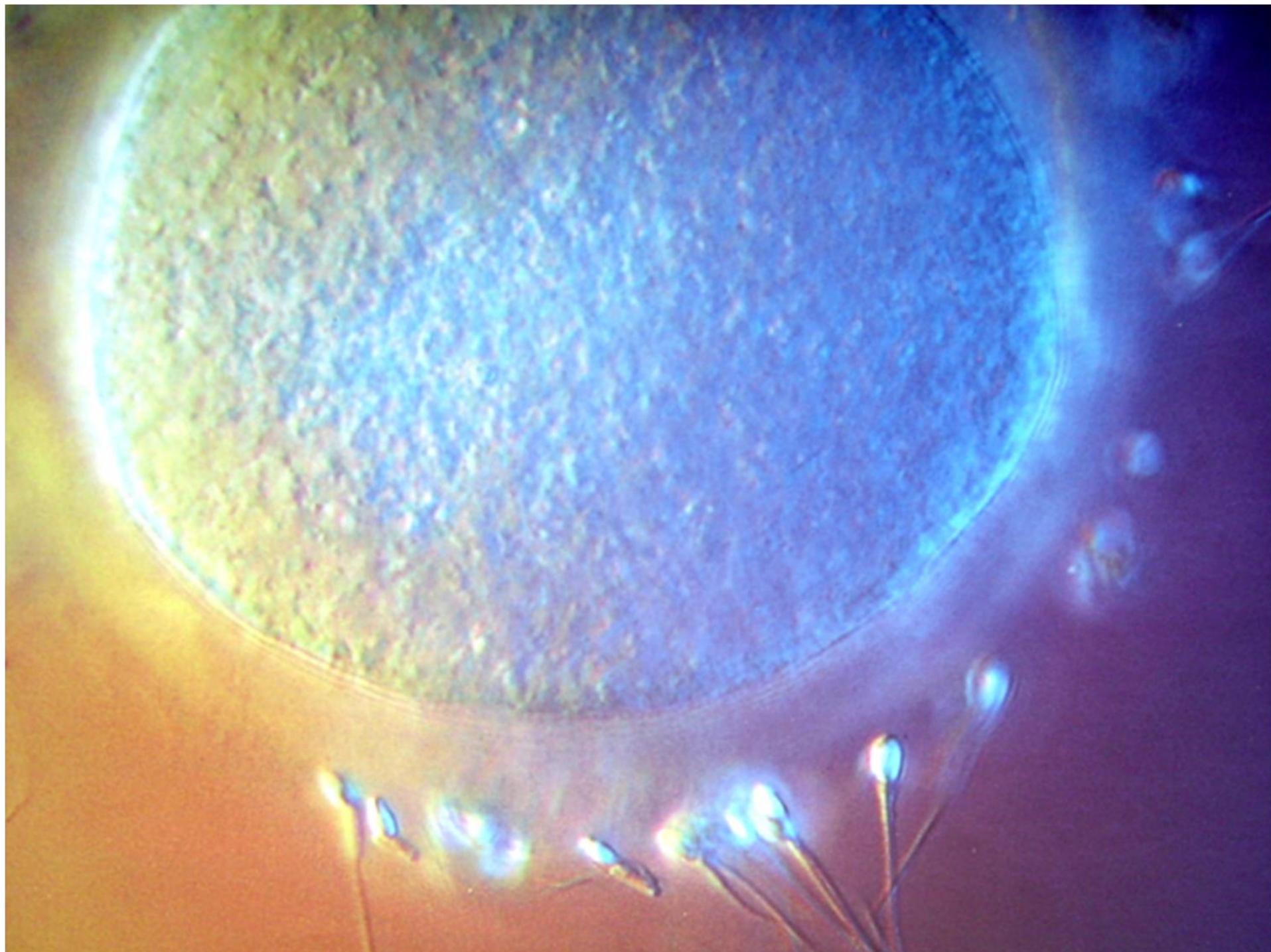
**Representación de una molécula de  
microglobulina  
CMH Clase I con tres dominios Alfa 1 y uno B2**



# **El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (siglas MHC en inglés)**

**En una gran región genómica o familia de genes que se encuentran en la mayoría de los mamíferos y aves.**

**Es la región más densa de genes del genoma de los mamíferos que desempeña un importante papel en el sistema inmune, autoinmunidad, rechazo de transplantes y éxito reproductivo**



# CMH

**Grupo de genes que codifican ciertas proteínas que se hallan en la superficie de las células y que ayudan al sistema inmune a reconocer sustancias extrañas. Se encuentran en los vertebrados superiores.**

**En el hombre el complejo es llamado Sistema Antígeno Leucocitario Humano (SALH)**

# CMH I, CMH II, CMH III

Las proteínas CMH actúan como “letreros” que muestran las piezas fragmentadas de un antígeno de la célula del hospedador

Elas pueden ser “*el mismo*” o el “*no mismo*”.

Hay dos maneras por las cuales la célula hospedadora puede reconocer al antígeno. Si la célula es un leucocito (macrófago): un monocito, ella puede deglutir la partícula (bacteria, virus, materia) romperla usando lisozimas y mostrar los fragmentos en moléculas de CMH I.

**O bien, si la célula hospedadora es infectada por una bacteria, o virus, o atacada por una célula cancerosa, ella puede mostrar los antígenos en su superficie con una molécula de CMH I.**

**En particular, virus y células cancerosas tienen una tendencia a mostrar antígenos “*no mismo*”, poco usuales en su superficie. Estos antígenos “*no mismo*”, no importando de que tipo de molécula de CMH sea, ellos son mostrados e iniciarán la inmunidad específica**

# **Factores que afectan al Sistema Inmune Aviar**

**Manejo**

**Nutrición**

**Genética**

**Temperatura (Frío, calor)**

**Estación del año**

**Estrés**

**Infecciones**



# **Enfermedades Virales Aviarias Inmunosupresoras**

- **Avibirnavirus/ Inf. Bolsa Fabricio**
- **Herpesvirus/ Enfermedad de Marek**
- **Retrovirus A,B,C,D, J/ Leucosis Aviar y Reticulo-Endoteliosis**
  - **Reovirus/ Artritis Viral**
  - **Avipoxvirus/ Viruela Aviar**
  - **Circovirus/ Anemia Infecciosa**

# **Enfermedades bacterianas**

**Colibacilosis**

# **Enfermedades fúngicas**

**Micotoxinas**

**Aflatoxinas/B1, B2**

**Zearalenona/F-2**

**Tricotecenos/T-2**

**Ocratoxinas/A**

**Citrinina, Osporeína, etc.**

# **Daños en el Sistema Inmune:**

**¡Inmunosupresión!**

# **Signos comunes en animales inmunosuprimidos**

- **Excesivas reacciones respiratorias postvacunales (*panleucocitopenia*)**
  - **Fallas vacunales**
- **Hatos/Parvadas disparejas**
  - **Pesos bajos**
  - **Morbilidad y Mortalidad**

# Conclusiones

**“Es un milagro de la evolución, o de la Creación, que el sistema inmune animal no sea controlado por ningún órgano central como el cerebro.**

**Él se fue desarrollando para funcionar como una dictadura biológica, en la cual cada individuo posee su propio sistema de información”**

*Los glóbulos blancos representan el 1% de los 100 trillones de células del cuerpo humano*

# **Inmunología Evolutiva**

**El estudio del sistema inmunitario en especies extintas y vivientes es capaz de darnos una clave en la comprensión de la evolución de las especies y el sistema inmunitario.**

**Un desarrollo de complejidad del sistema inmunitario pueden ser visto desde la protección fagocítica simple de los organismos unicelulares, la circulación de los péptidos antimicrobianos en insectos y los órganos linfoides en vertebrados. Por supuesto, como muchas de las observaciones evolutivas, estas propiedades físicas son vistas frecuentemente a partir de la mirada antropocéntrica. Debe reconocerse que, cada organismo vivo hoy tiene un sistema inmunitario absolutamente capaz de protegerlo de las principales formas de daño.**

**MUCHAS GRACIAS**

*miguel.marquez@unam.mx*



## ASOCIACIÓN DE MÉDICOS VETERINARIOS ESPECIALISTAS EN CERDOS DE LA PIEDAD, A.C.

La Piedad, Michoacán.; 20 de Septiembre, 2018

### Mecanismos de virulencia bacteriana y su interacción con la respuesta inmune

Las bacterias son organismos procariotas y, por lo tanto, su material genético no está delimitado por una membrana nuclear. Son abundantes y poseen una extraordinaria capacidad de adaptar su metabolismo a una gran variedad de microcosmos contenidos en tierra, agua, materia orgánica, plantas y animales.

Las bacterias se reproducen asexualmente por división binaria, una vez duplicado su ADN (ácido desoxirribonucleico) se alarga la membrana citoplasmática y se forma una división transversal que separa al ADN original y a su copia, originándose así dos células hijas.

En términos de biomasa, estos organismos son incontables; según los cálculos el 90% de nuestras células corresponden a bacterias, es decir, tenemos más bacterias que células propias.

En las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultra estructura bacteriana, lográndose una identificación bioquímica de muchas fracciones subcelulares; estos avances han permitido ubicar a las bacterias en el reino Procaryotae. El conocimiento de las diferentes estructuras y composición ha permitido comprender como muchas bacterias se relacionan con el hombre, ya sea como integrantes de la flora normal o como agresoras para el mismo.

El descubrimiento de que muchas estructuras bacterianas bien identificadas son inmunógenos importantes, permitió el desarrollo de vacunas que han sido verdaderos avances en la medicina de los últimos años. Ejemplo de ello son las vacunas contra microorganismos causantes de meningoencefalitis supurada como *Haemophilus influenzae* tipo b y *Neisseria meningitidis* (meningococo) A, B y C.

El conocimiento de la composición bioquímica de las diferentes estructuras bacterianas, junto al conocimiento del metabolismo bacteriano, permite hoy la comprensión del mecanismo de acción de los diferentes antibióticos.

## ESTRUCTURA BACTERIANA

Las diferentes estructuras bacterianas que observamos (ver figura 2) las podemos dividir, según sean constantes en las células o no, en estructuras permanentes o variables. Dentro de las primeras se destaca: la pared celular, la membrana celular, los ribosomas y el material genético. Las estructuras variables son: los flagelos, las fimbrias o pilis, la cápsula y los esporos.

Además podemos clasificar las estructuras bacterianas en internas o citoplásmicas y externas o de la envoltura celular. Dentro de las internas destacamos el material genético, los ribosomas y los cuerpos de inclusión. La envoltura celular engloba la membrana plasmática, la pared celular que la recubre, la cápsula y los apéndices como fimbrias o pilis y flagelos. Contiene los sitios de transporte para nutrientes, interviene en la relación huésped parásito, es blanco de las reacciones del sistema inmune y puede contener estructuras tóxicas para el huésped.

## ESTRUCTURAS INTERNAS O CITOPLASMÁTICAS

Están inmersas en el citoplasma, solución acuosa y viscosa que contiene solutos orgánicos e inorgánicos y elementos especializados como los ribosomas.

### Material genético

#### Ácido desoxirribonucleico cromosómico

El ADN tanto procariota como eucariota se compone de dos cadenas helicoidales de nucleótidos de purina y de pirimidina, unidos entre sí por enlaces de hidrógeno, formando una doble hélice según el modelo de Watson y Crick.

Las bacterias no poseen membrana nuclear, nucléolo ni aparato mitótico y nunca configuran una masa cromosómica definida. Esto las diferencia de las células eucariotas. Aunque no existe un núcleo delimitado, hay una zona nuclear o nucleoide. Su material genético está constituido por una molécula de ADN circular enrollado sobre sí mismo, asociado a proteínas básicas que no constituyen verdaderas histonas.

### Plásmidos

Constituyen el material genético extra cromosómico. Están constituidos por secuencias cortas de ADN circular bicatenario, que pueden existir y replicarse independientemente del ADN cromosómico y son heredados por las células hijas. Aunque no son esenciales para la vida de la bacteria, generalmente proveen a ésta una ventaja selectiva, por ejemplo: resistencia a los antibióticos, nuevas capacidades metabólicas, patogénicas (cuando codifican para factores de virulencia como toxinas, etc.) u otras numerosas propiedades. Pueden transferirse de bacteria a bacteria mediante un proceso denominado conjugación.

## ESTRUCTURAS EXTERNAS O DE LA ENVOLTURA CELULAR

### Membrana celular

Consiste en una bicapa lipídica similar a otras membranas biológicas, compuesta por fosfolípidos anfipáticos; no posee esteroides a diferencia de las eucariotas (con la excepción de los mycoplasmas). La membrana celular cumple la función de barrera osmótica, tiene permeabilidad selectiva y permite el ingreso de nutrientes y la salida de desechos por mecanismos de transporte activo y pasivo. En ella se encuentran los sistemas de fosforilación oxidación y el transporte de electrones para la producción de energía; además tiene las enzimas necesarias para la síntesis de lípidos, de la pared celular (por ejemplo, el bactoprenol),

de la cápsula, etc. Finalmente la membrana contiene moléculas receptoras especiales que ayudan a las bacterias a detectar y responder a sustancias químicas del medio externo.

## **Pared celular**

Ubicada por fuera de la membrana plasmática, es una estructura vital para las bacterias que la poseen. Los fármacos que bloquean su formación producen la lisis y muerte de las bacterias susceptibles. Excepto los mycoplasmas todas las bacterias tienen una pared celular que les da forma y las protege de la lisis osmótica. La pared celular de muchos microorganismos patógenos tiene componentes que contribuyen a su patogenicidad. La pared puede proteger a la célula de las sustancias tóxicas y es el sitio de acción de algunos antibióticos.

El espacio periplásmico de las bacterias gramnegativas contiene muchas proteínas que participan en la captación de nutrientes, por ejemplo enzimas hidrolíticas (proteasas, lipasas, fosfatasas,  $\beta$ -lactamasas) que convierten las macromoléculas en productos más pequeños que pueden ser metabolizados por la bacteria. El espacio periplásmico contiene también enzimas que participan en la síntesis del peptidoglicano y en la modificación de compuestos tóxicos que podrían lesionar la célula. En especies patógenas, también encontramos a ese nivel factores de virulencia como colagenasas, hialuronidasas y proteasas.

El peptidoglicano o mureína es un gran polímero compuesto por muchas subunidades idénticas. (Ver figuras 3 Y 4). El polímero contiene dos aminoazúcares: N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico; unidos entre sí en la posición  $\beta$ 1-4. El esqueleto de este polímero está formado por residuos alternantes de N acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico. Una cadena peptídica de cuatro aminoácidos D- y L- alternantes está conectada a un grupo carboxilo del ácido N-acetilmurámico. Los tetrapéptidos de una y otra cadena de peptidoglicano se unen entre sí por puentes peptídicos.

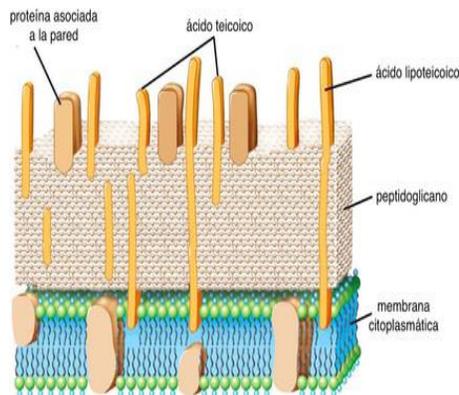
## **Estructura de la pared celular de las bacterias grampositivas**

La gruesa pared celular de las bacterias grampositivas está constituida principalmente por peptidoglicano. Se cree que ésta gruesa capa de peptidoglicano es la determinante de que estas bacterias retengan el cristal violeta de la coloración de Gram.

Sin embargo, estas células contienen también una gran cantidad de ácido teicoico: polisacáridos que se unen al ácido N-acetilmurámico o a los lípidos de la membrana plasmática. En este último caso se denomina ácido lipoteicoico. Tanto los ácidos teicoicos como los lipoteicoicos, tienen la función de estabilizar la pared celular.

Además los ácidos teicoicos tienen un rol en la virulencia de estos microorganismos, porque actúan como antígenos de superficie que se unen a receptores específicos en las células del huésped. La superficie externa del peptidoglicano de las bacterias grampositivas está generalmente cubierta de proteínas. Los diferentes grupos de bacterias grampositivas y las diferentes especies difieren en la composición de sus proteínas y de ácidos teicoicos; esto es útil para la clasificación serológica y la identificación bacteriana.

**Figura 1. Diagrama de la pared bacteriana. Grampositiva**

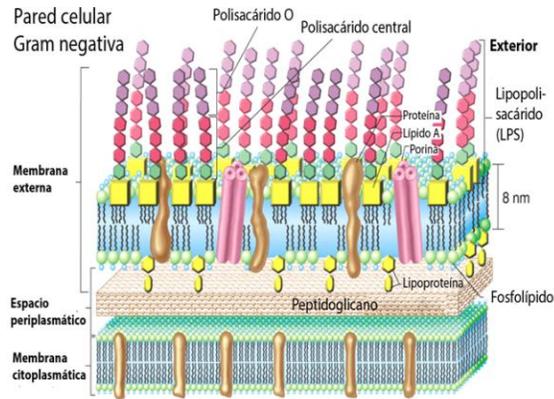


## **Estructura de la pared celular de las bacterias gramnegativas**

Si observamos la pared de las bacterias gramnegativas al microscopio electrónico podemos observar tres zonas: la membrana plasmática, el espacio periplásmico que incluye una fina capa de peptidoglicano y la membrana externa. Esta última, exclusiva de las bacterias gramnegativas, es una bicapa lipídica que difiere de otras membranas por su capa externa, que está constituida por una molécula anfipática: el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina. Además del LPS, la membrana externa contiene fosfolípidos y proteínas que la unen al peptidoglicano. El LPS está constituido por tres partes: el lípido A, el polisacárido central o del core y la cadena lateral O. (Ver figura 6). La región del lípido A está inmersa en la membrana externa y el resto de la molécula del LPS sobresale de la superficie celular. El core o polisacárido central está unido al lípido A. La cadena O u antígeno O, consiste en unidades repetidas de una subunidad tetrasacárida y es muy variable en su composición entre las diferentes familias, especies y aún dentro de la misma especie de bacterias gramnegativas; en cambio, el polisacárido del core es constante para un mismo género bacteriano. El polisacárido O por su variabilidad es usado frecuentemente para la clasificación serológica de las bacterias.

La mayoría de las bacterias sintetizan moléculas de LPS con un antígeno O de longitud completa, algunas especies fabrican moléculas cortas de antígeno O y otras casi no lo sintetizan. Las formas con poco o ningún antígeno O se conocen como rugosas, en oposición a las formas lisas productoras de antígeno O de tamaño completo. Macroscópicamente se observan como colonias de bordes rugosos (LPS truncado) o colonias lisas (LPS completo). Una de las funciones más importantes de la membrana externa es servir como barrera protectora. Evita o disminuye la entrada de sales biliares, antibióticos y otras sustancias tóxicas que podrían destruir o lesionar la bacteria. La membrana externa es más permeable que la plasmática y permite el pasaje de pequeñas moléculas como glucosa y otros monosacáridos. Dicho pasaje se debe a la presencia de porinas, proteínas integrales o transmembrana que forman canales estrechos por los cuales pasar moléculas menores de 600 a 700 dalton. Moléculas mayores como la vitamina B12 pueden atravesar la membrana externa por transportadores específicos. Esta membrana externa previene la pérdida de constituyentes como las enzimas periplásmicas.

Figura 2. Diagrama de la pared bacteriana. Gramnegativa



## INFECCIONES BACTERIANAS

Una infección bacteriana es definida como la presencia de una bacteria dentro de un hospedero vivo. De acuerdo a esta definición sabemos que una infección no es sinónimo de enfermedad, podemos estar colonizados por la flora normal de nuestro organismo y no estar enfermos. Sin embargo, en la práctica, se dice que está presente una infección cuando se puede observar la respuesta a esta por parte del hospedero (Koneman, 2003)

La patogenicidad es la propiedad que tiene un microorganismo para producir enfermedad, por lo tanto, las bacterias que pueden causar esto reciben el nombre de patógenas. La virulencia es la medida de esta patogenicidad y depende tanto del microorganismo como del hospedero y su interacción.

Las características del microorganismo son de suma importancia para su patogenicidad. Estos deben de tener la capacidad de adherirse a las superficies epiteliales o mucosas del huésped lo cual logran gracias a estructuras llamadas adhesinas (fimbrias y ácidos lipoteicóicos) que se encuentran en la superficie bacteriana. Las bacterias pueden llegar a atravesar estas barreras y multiplicarse invadiendo otros tejidos. La producción de sustancias denominadas factores de virulencia (cápsula, enzimas y toxinas) por parte de las bacterias, les permite evadir los mecanismos inmunológicos del huésped y lograr dicha replicación.

En algunos casos las bacterias pueden llegar a sangre ocasionando infecciones generalizadas (Kenneth 2007). Entre los factores de virulencia más importantes se encuentran las toxinas, que se dividen en dos grupos: exotoxinas y endotoxinas. Las exotoxinas son proteínas termolábiles producidas por bacterias grampositivas y gramnegativas que pueden ser inactivadas o activadas por enzimas proteolíticas. Un ejemplo de exotoxina activada por enzimas proteolíticas es la de la tetanospasmina, liberada por *Clostridium tetani*. Cuando ocurre la lisis celular, la exotoxina se libera y es cortada por enzimas proteolíticas resultando dos cadenas polipeptídicas, una pesada ( $\beta$ ) y una liviana ( $\alpha$ ). La cadena  $\alpha$  puede internalizarse hasta el sistema nervioso central (SNC) bloqueando la inhibición presináptica, causando parálisis espástica, tétanos y convulsiones generalizadas. Las endotoxinas son lipopolisacáridos producidos exclusivamente por bacterias gramnegativas. Son termoestables y tienen una toxicidad baja en comparación con las exotoxinas, pueden causar desde fiebre hasta hipertensión arterial (Koneman, 2003; Kenneth, 2002; Bruggemann 2003)

## RESPUESTA INMUNOLOGICA

### Bacterias extracelulares: inmunidad

Como su nombre indica, las bacterias extracelulares son capaces de replicarse fuera de las células del huésped. Si una bacteria logra traspasar las barreras físicas y químicas (piel, mucosas, lisozima...), puede llegar junto al torrente sanguíneo, donde se enfrentará con la línea de defensa innata:

Los mecanismos principales de la inmunidad innata frente a las bacterias extracelulares son la activación del complemento, la fagocitosis y la respuesta inflamatoria. Brevemente se puede definir el proceso de inflamación como una serie de reacciones complejas del sistema inmune innato en los tejidos vascularizados junto al foco de infección. Hay una acumulación de leucocitos (polimorfonucleares, mastocitos, macrófagos...) activados que producen una serie de proteínas vasoactivas y con capacidad de atraer otras células. Aunque es una respuesta rápida con finalidad reparadora, puede causar lesión tisular y enfermedad.

El Complemento constituye la primera línea de defensa innata humoral. Sin necesidad de Ac se pueden activar las vías alternativa y de las lectinas directamente sobre la superficie del patógeno

La activación continuada del complemento genera anafilotoxinas (C3a y C5a) que inducen inflamación atrayendo a células inmunocompetentes a la zona de la agresión.

Los Macrófagos constituyen la primera línea de defensa celular. Se originan a partir de los monocitos de sangre y, posteriormente, migran hacia los tejidos. Poseen receptores para proteínas del complemento y porción Fc. Si los patógenos consiguen atravesar los epitelios y llegan hasta el tejido conectivo subepitelial, son fagocitados por los macrófagos con o sin opsonización. La inmunidad humoral es la principal respuesta inmunitaria protectora frente a las bacterias extracelulares, y actúa eliminando los microorganismos y neutralizando sus toxinas.

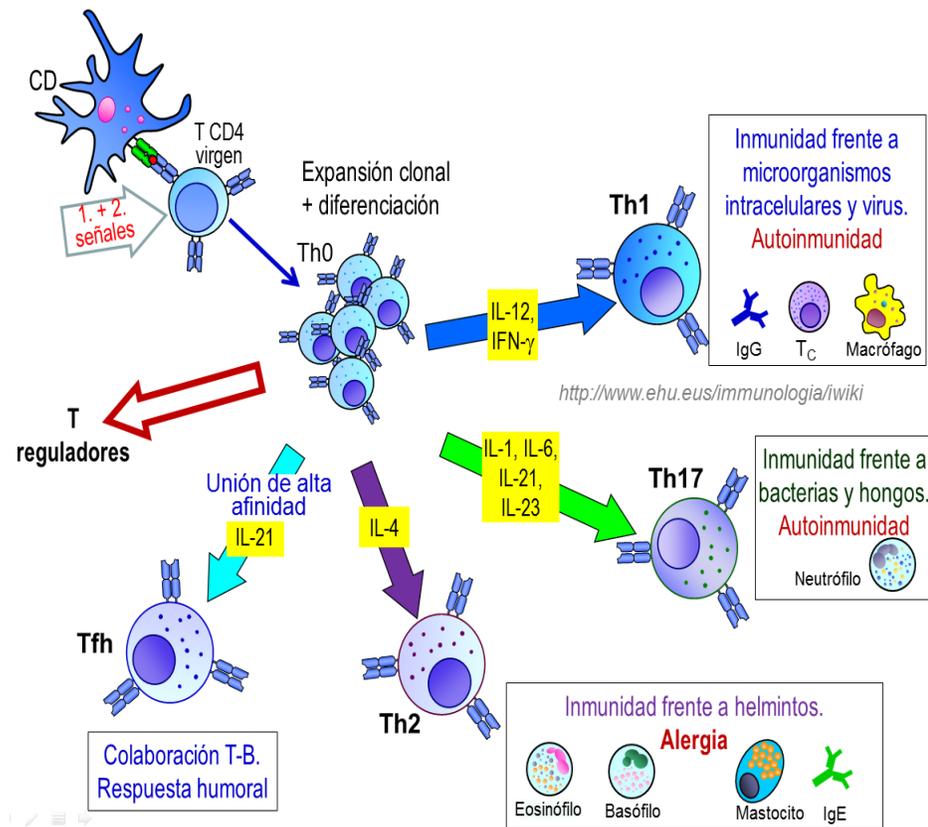
### Bacterias intracelulares: inmunidad

Como ya se ha comentado, el tipo de patógeno condiciona el tipo de respuesta específica. En el caso anterior, aunque los virus son patógenos intracelulares obligados, también se puede activar la respuesta inmune frente a las partículas extracelulares, ser procesados y presentados por el MHC de clase II que desencadena la respuesta humoral. Los dos mecanismos principales de inmunidad innata frente a los virus son la inhibición de la infección por los IFN de tipo I (a y b) y la destrucción de las células infectadas por las células NK. Estos IFN de tipo I son inducidos por las células infectadas y protegen contra la infección de un gran número de virus, principalmente con RNA como genoma.

Las células NK no dependen del reconocimiento restringido por MHC y reconocen, precisamente, células infectadas con virus que inhiben la expresión del MHC de clase I (HSV-1, por ejemplo). Estas células NK pueden producir, entre otros factores, IFN $\gamma$  que activan a los macrófagos y los hace más efectivos a la hora de fagocitar y destruir microorganismos intracelulares.

La inmunidad adaptativa frente a las infecciones virales está mediada por anticuerpos, que bloquean la unión del virus a su entrada en las células del huésped, y por CTL, que eliminan la infección al destruir las células infectadas. Los macrófagos pueden activarse también por linfocitos CD4 Th1 para destruir al patógeno. Al mismo tiempo que se produce la respuesta primaria, se producen células de memoria que pueden durar toda la vida y que orquestan una respuesta mucho más rápida en caso de una reinfección con el mismo agente. En este caso, los linfocitos de memoria B suelen ser más eficaces que los T. En cuanto a los mecanismos de escape del sistema inmune por los virus, los más importantes son:

- Variación antigénica mediante mutación puntual, principalmente.
- Inhibición de la presentación del Ag en el MHC clase I.
- Producción de factores inhibitorios (bloqueando los receptores de citoquinas, por ejemplo).
- Infección y destrucción de células inmunocompetentes.



[http://www.ehu.es/immunologia/iwiki/?2\\_2\\_Inmunidad\\_adquirida\\_frente\\_a\\_bacterias\\_extracelulares](http://www.ehu.es/immunologia/iwiki/?2_2_Inmunidad_adquirida_frente_a_bacterias_extracelulares)

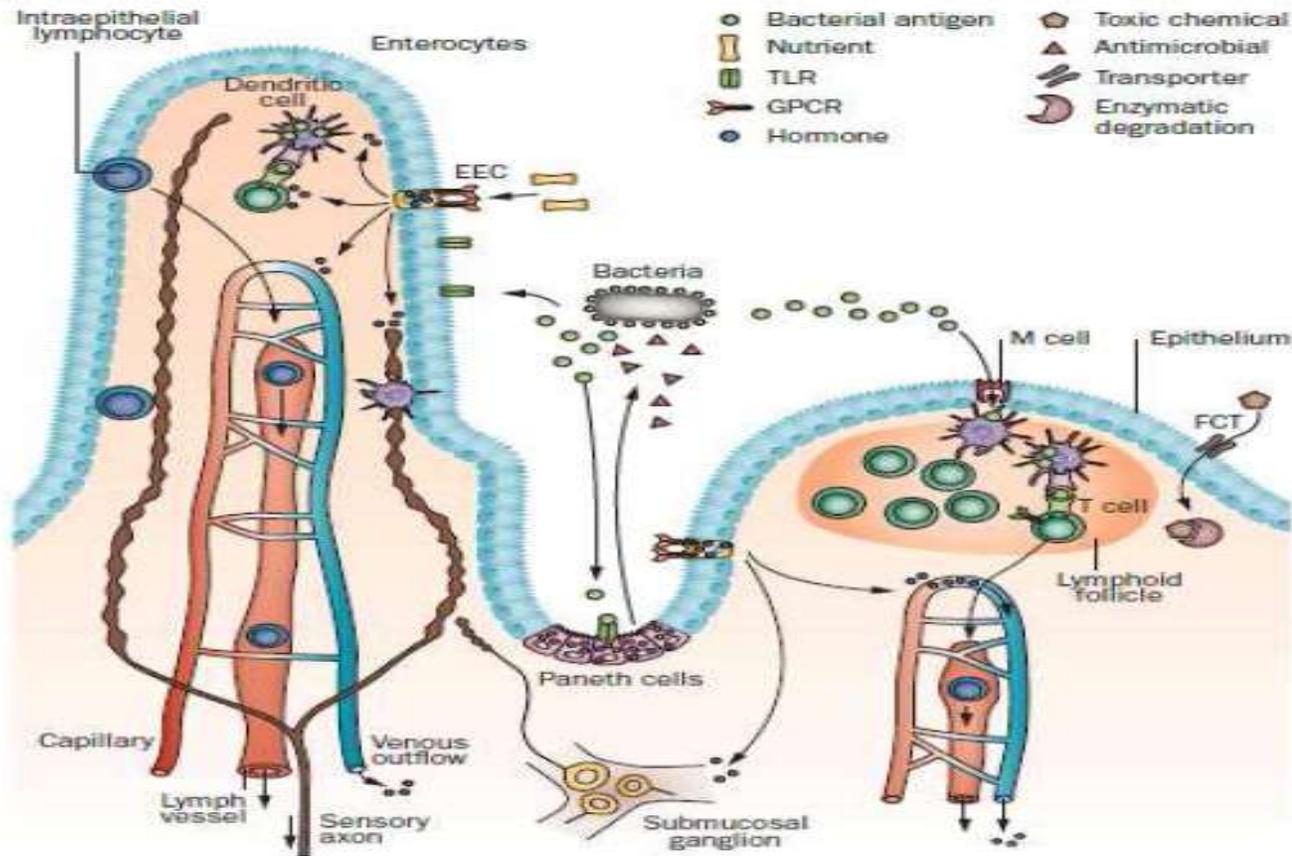
## Bibliografía

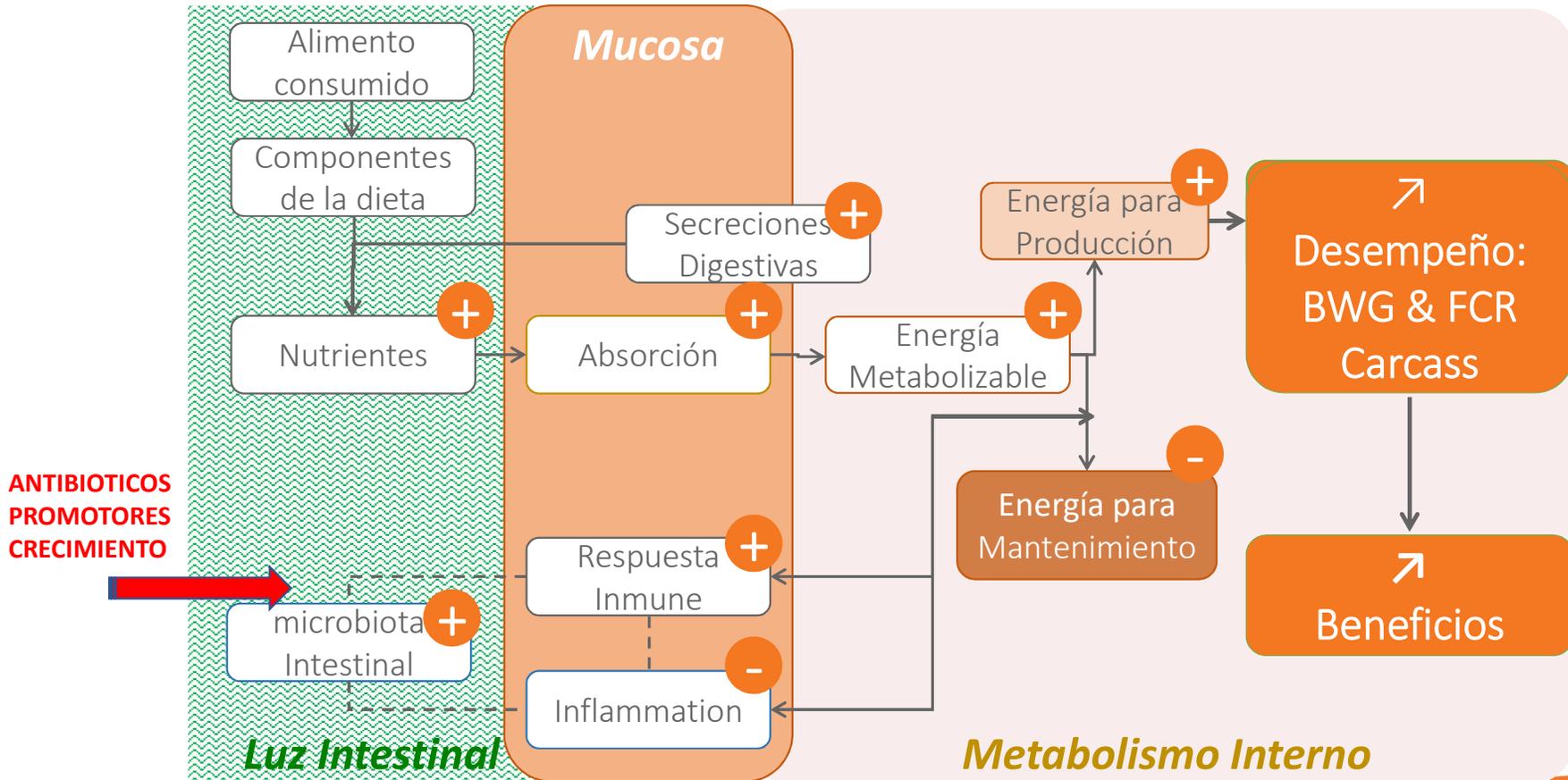
- 1.- Factores de virulencia bacteriana " La inteligencia de las bacterias "María Elena Cárdenas-Perea, Othón Rafael Cruz y López, José Luis Gándara-Ramírez, Marco Antonio Pérez-Hernández
- 2.- Introducción a la Inmunología: [http://www.ehu.eus/inmunologia/iwiki?2\\_2inmunidad\\_adquirida\\_frente a bacterias \\_extracelulares](http://www.ehu.eus/inmunologia/iwiki?2_2inmunidad_adquirida_frente_a_bacterias_extracelulares)
- 3.- Morfología y estructura bacteriana *M. Pérez, M. Mota*
- 4.- <https://booksmedicos.org/inmunologia-celular-y-molecular-abbas-7a-edicion/>
- 5.- Inmunología celular y molecular Abbas 7ª Edición

# FISIOLOGIA DE LOS RECEPTORES DE MEMBRANA INTESTINALES Y SU INTERACCION CON LOS VIRUS DE SIV, PED, PRRS

MVZ DrCPA Raúl Cortés Coronado  
TS Manager LATAM

# ESTRUCTURA DE LAS VELLOSIDADES





# RECEPTORES INTESTINALES AL DULCE

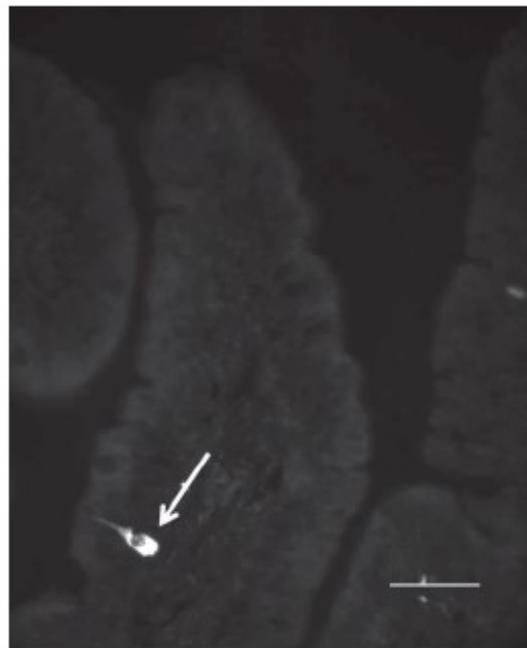
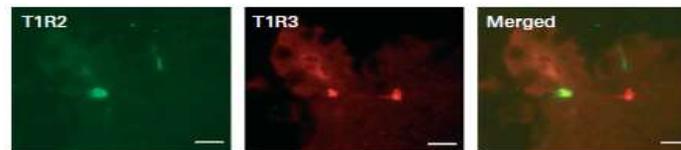


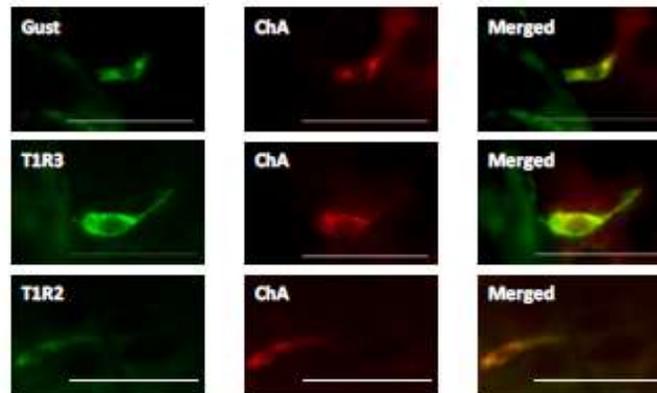
Figure 1. An intestinal villus with a typical flask-like-shaped enteroendocrine cell among the surface epithelial cells. Enteroendocrine cells have long, slender processes that extend to the gut lumen where they can detect the luminal contents. The villus is a section from the pig intestine, and the enteroendocrine cell is identified by immunohistochemistry using an antibody to chromogranin A. Scale bar represents 10  $\mu$ m.

Shirazi-Beechey and others, 2011.  
Journal of Animal Science., 2010

Taste receptors T1R2 and T1R3 in piglets EE gut cells. *Moran et al., 2010.*

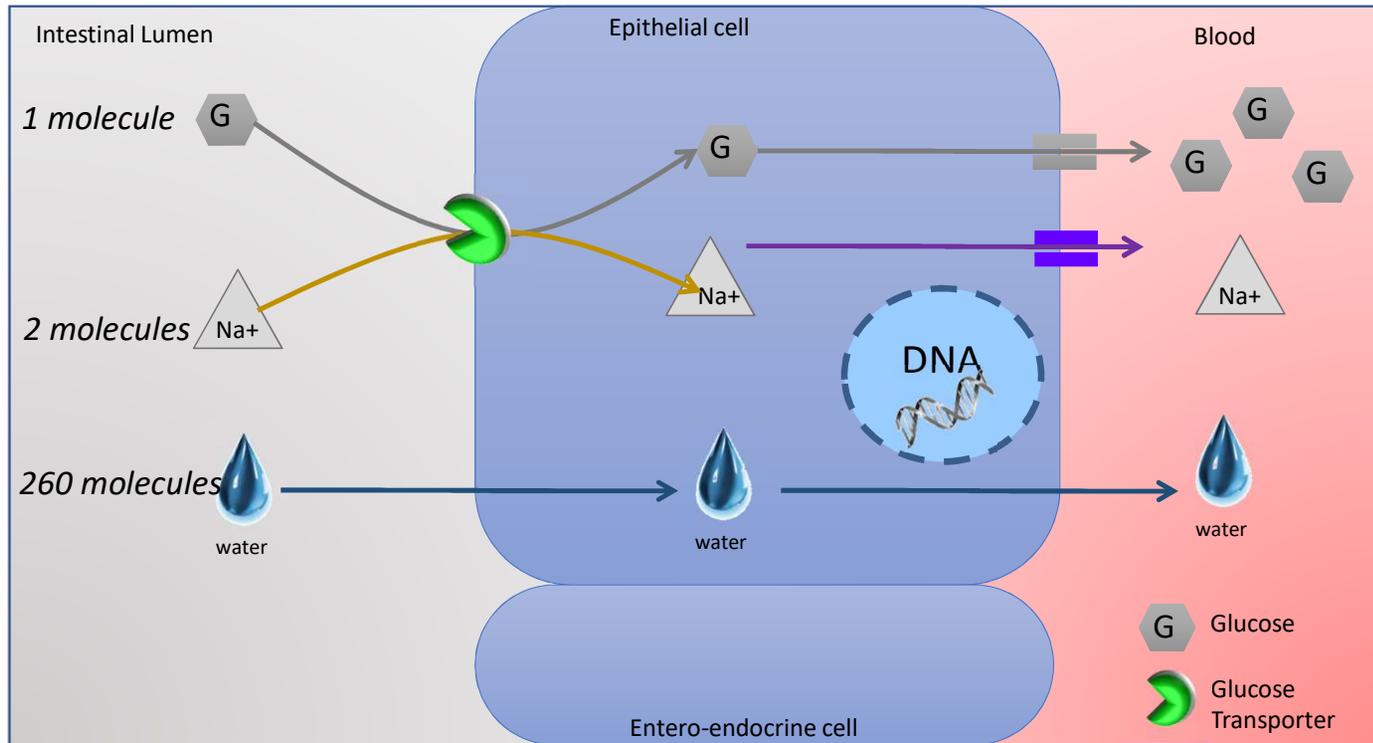


Taste receptors T1R2 and T1R3 in calves and ruminant EE gut cells. *Moran, Al-Rammahi, Bravo, Calsamiglia and Shirazi-Beechey*

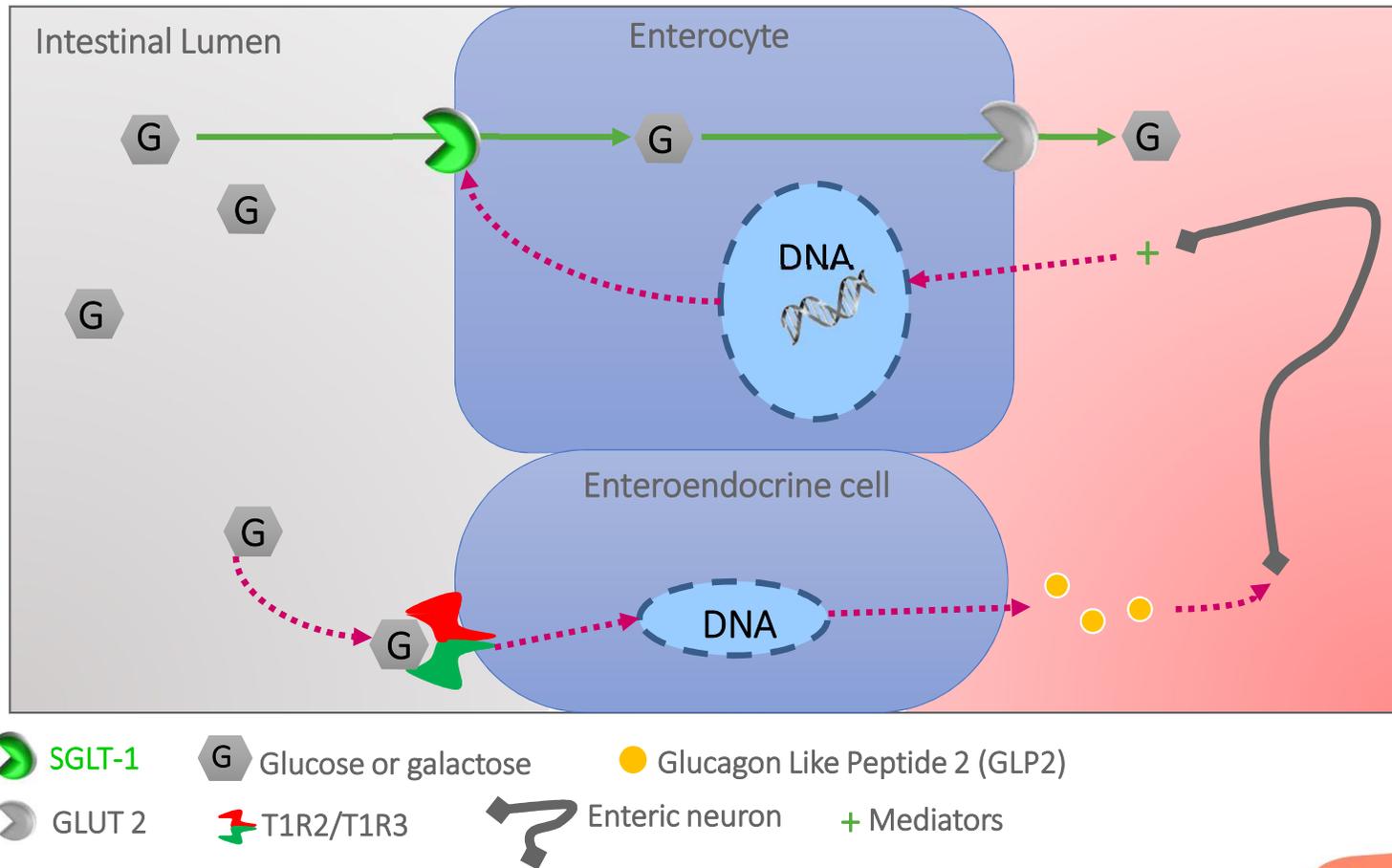


# MODO DE ACCION EN EL EPITELIO INTESTINAL

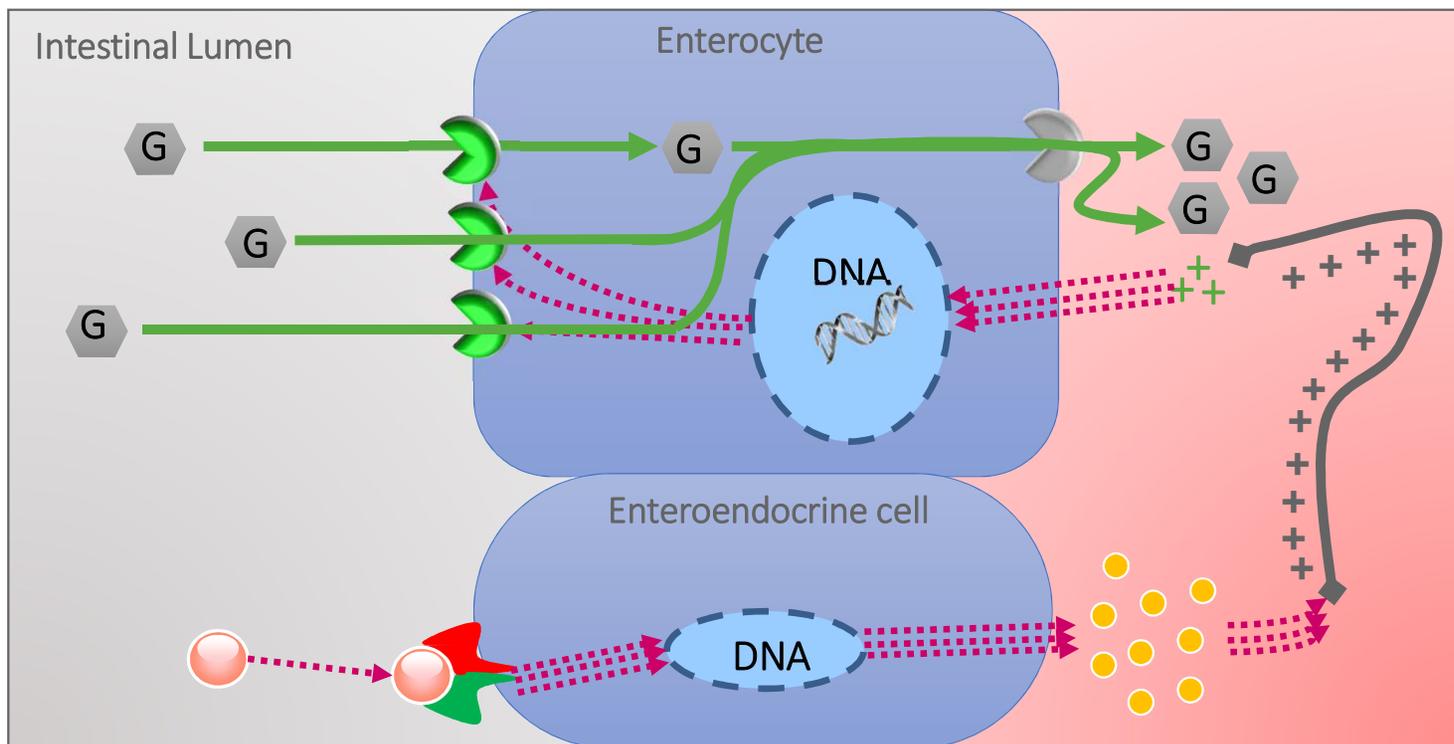
## LA ABSORCIÓN DE GLUCOSA ES CONJUNTA CON LA DE AGUA



# MODO DE ACCION EN EL EPITELIO INTESTINAL



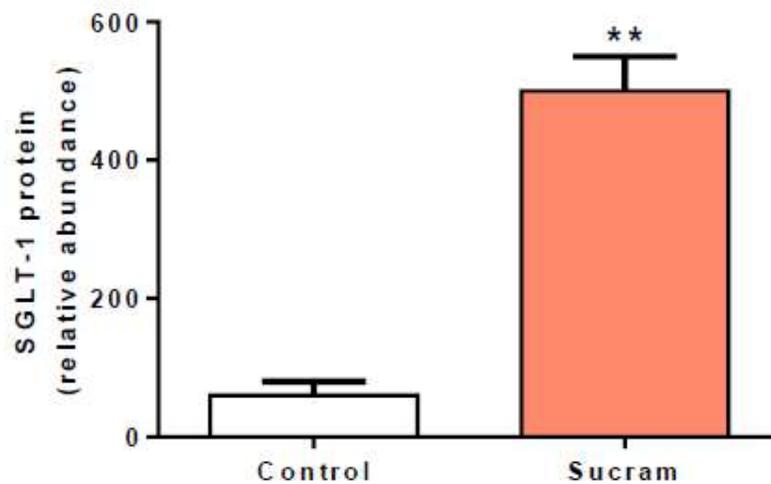
# MODO DE ACCION EN EL EPITELIO INTESTINAL



-  SGLT-1
-  GLUT 2
-  Glucose or galactose
-  T1R2/T1R3
-  SUCRAM® EDULCORANTE
-  Glucagon Like Peptide 2 (GLP2)
-  Enteric neuron
-  + Mediators

## AUMENTO DEL NÚMERO DE TRANSPORTADORES DE AZUCAR EN LAS CÉLULAS INTESTINALES

### Results



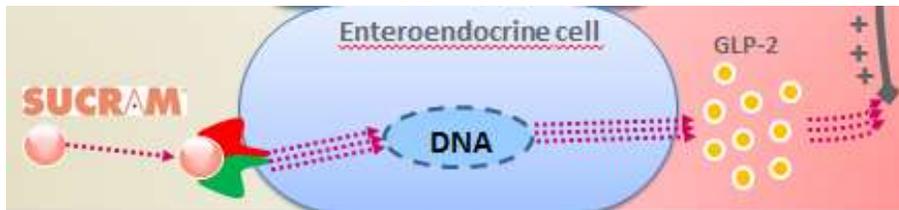
**EDULCORANTE induce mayor cantidad de transportadores de Glucosa (SGLT-1) : 7.2 veces**

\*\* = P < 0.01; S. Calsamiglia, S. Shirazi-Beechey, & D. Bravo; non-lactating dairy cows

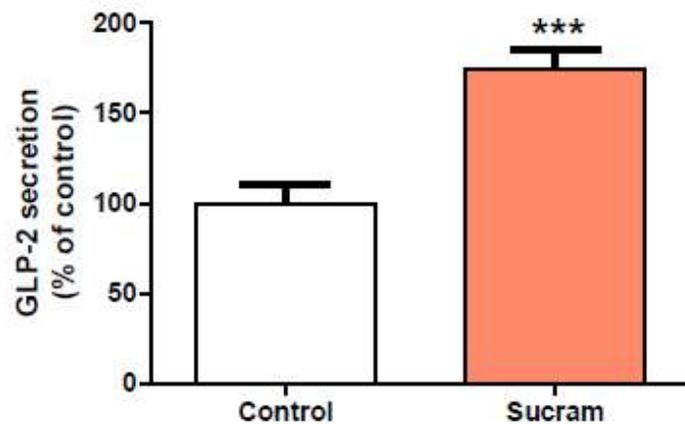
Moran et al., 2014 J. Dairy Sci.

## AUMENTO DE LA PRODUCCIÓN DE GLP2

- EDULCORANTE induce mayor producción de GLP2

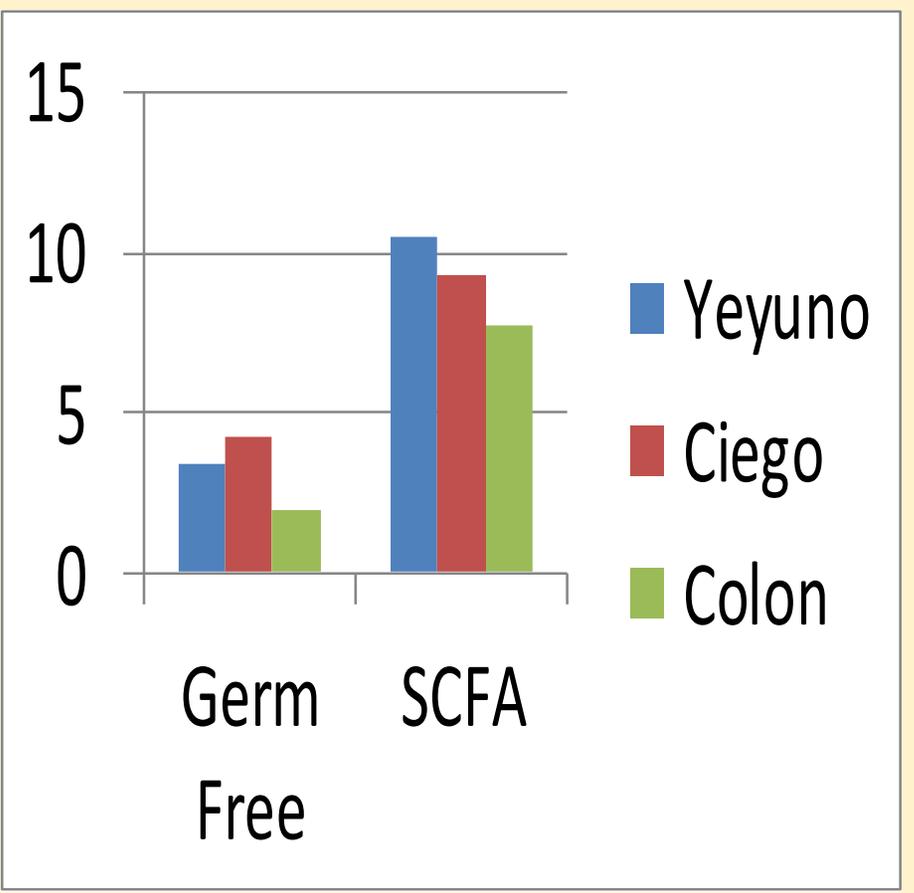
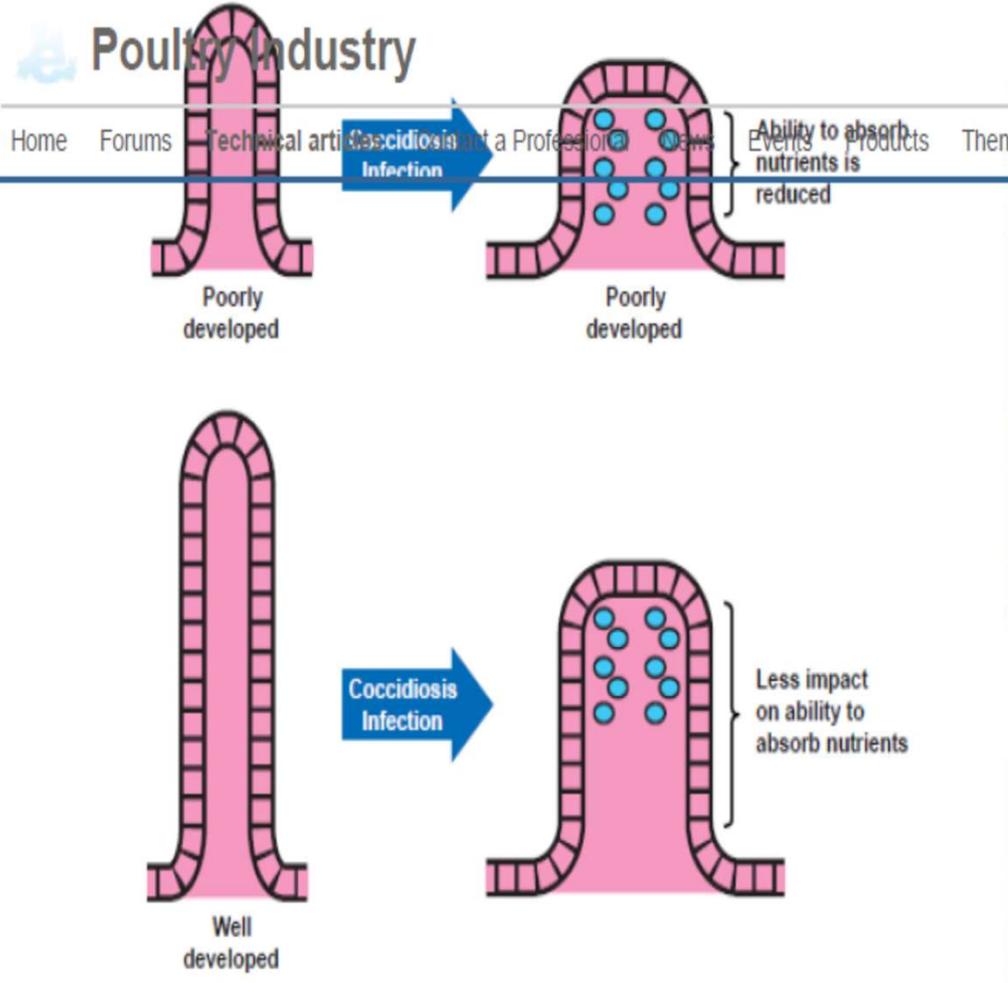


- GLP-2 es la hormona que active la supervivencia celular y la multiplicación en las criptas .



Moran et al., 2014. J. Dairy Sci.

25 Y

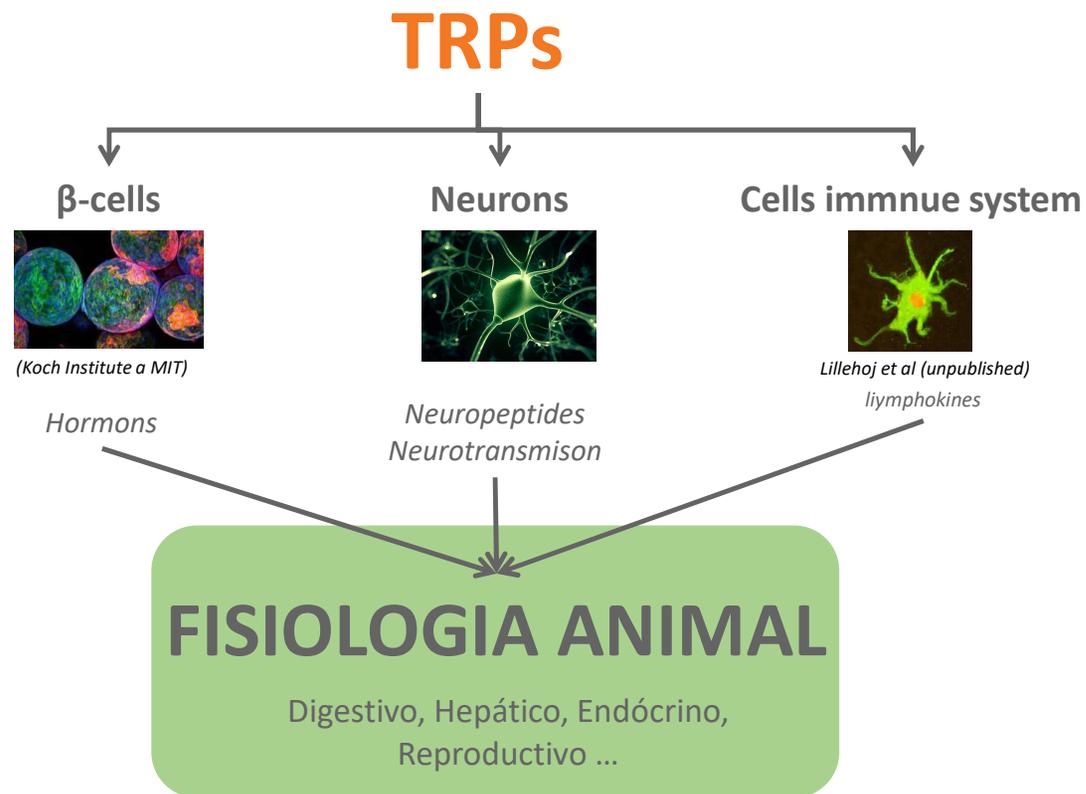


(b)

750

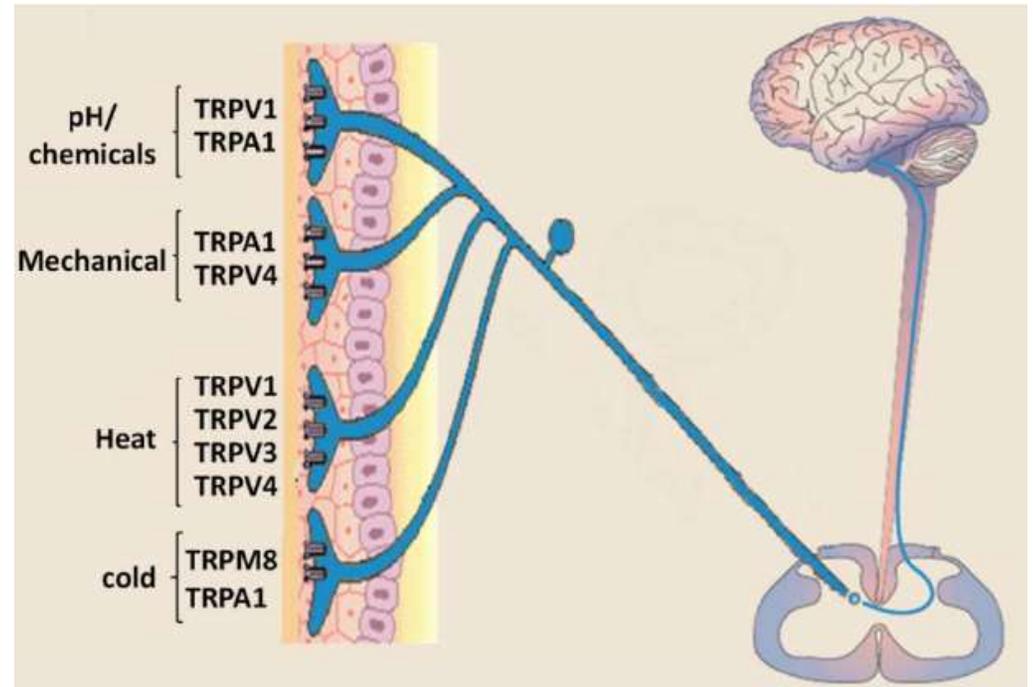
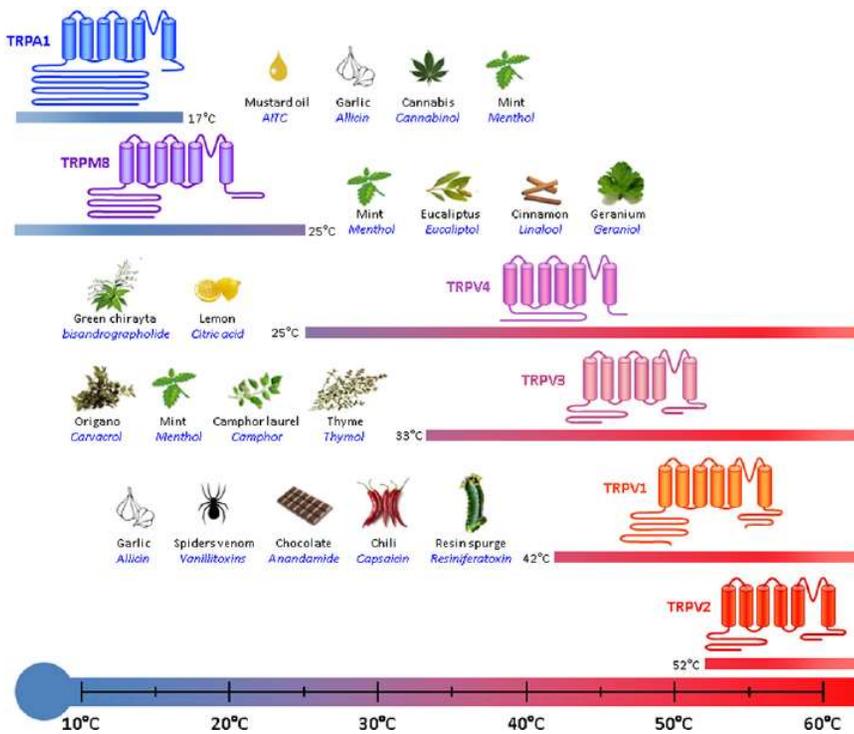
S X

# RECEPTORES «MULTIPLES» DE LA MEMBRANA CELULAR



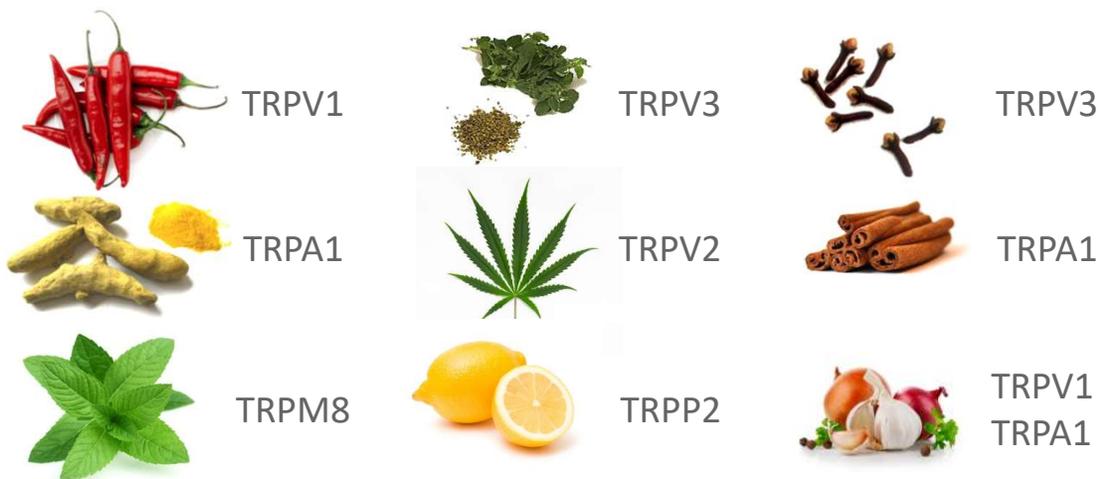
- Kumar et al. 2013. Frontiers in Biosci.

# RECEPTORES «MULTIPLES» DE LA MEMBRANA CELULAR



# BIOACTIVOS QUE INTERACTÚAN CON LOS RECEPTORES TRP

Componentes dietéticos	Azúcares, edulcorantes	Carbohidratos	Peptonas y AA	AG libres	fitomoléculas
Receptores	T1R2-T1R3	T1R2-T1R3, SGLT1	CaSR, GPR9s, T1R1-T1R3, GPRC6A	FFA rec. 1-3, GPR 119, GPR 120	<b>Receptores TRP</b>

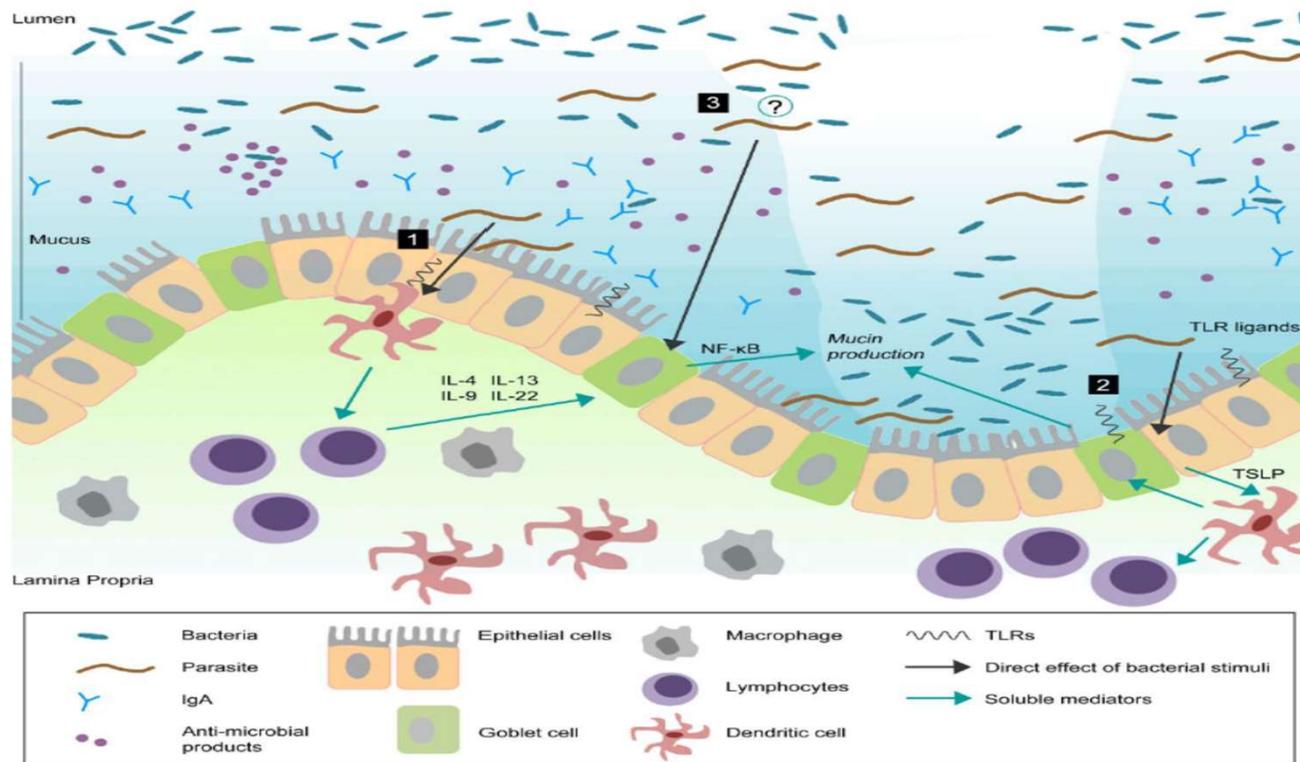


**Receptores: no expresados a lo largo de todo el tracto gastrointestinal**

- Furness et al. 2013. Nature Reviews
- Premkumar. 2014. ACS Chem. Neurosci

# MOCO COMO BARRERA FÍSICA-QUÍMICA Y ALIMENTO DE LA MICROBIOTA

**Figure 1.** Goblet cells reside throughout the gastrointestinal (GI) tract and are responsible for the production and preservation of a protective mucus layer by synthesizing and secreting mucins.

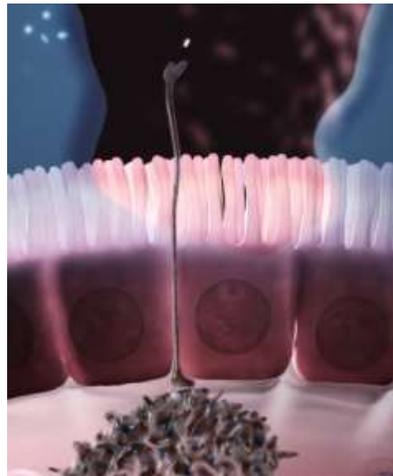
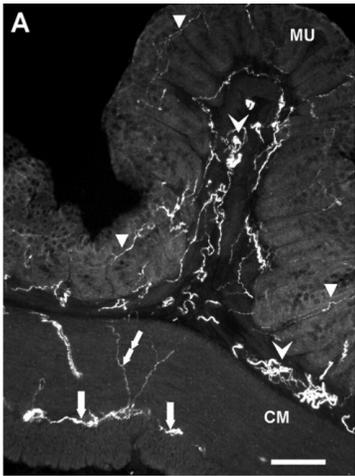


# ACCION DE LOS BIOACTIVOS SOBRE LOS TRP



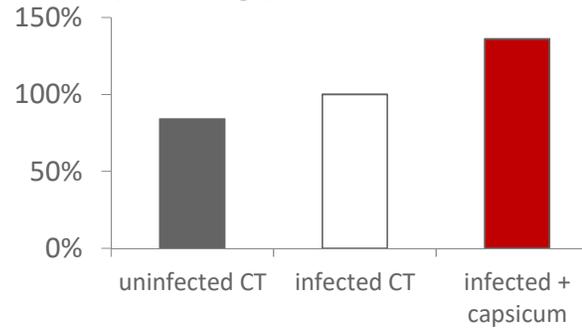
- TRPV1, Sistema nerviosos intestina y células Dendriticas

Localization of TRPV1 on ENS in mouse large intestine (immunoreactivity; white sections)

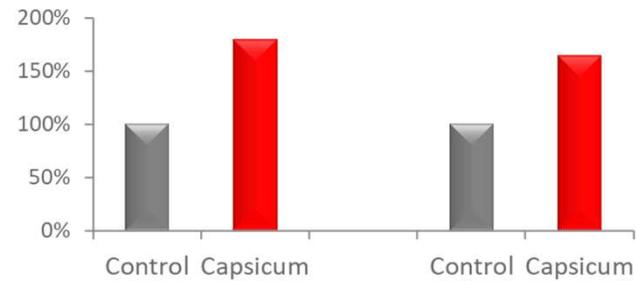


Localization of TRPV1 on intestinal dendritic cells

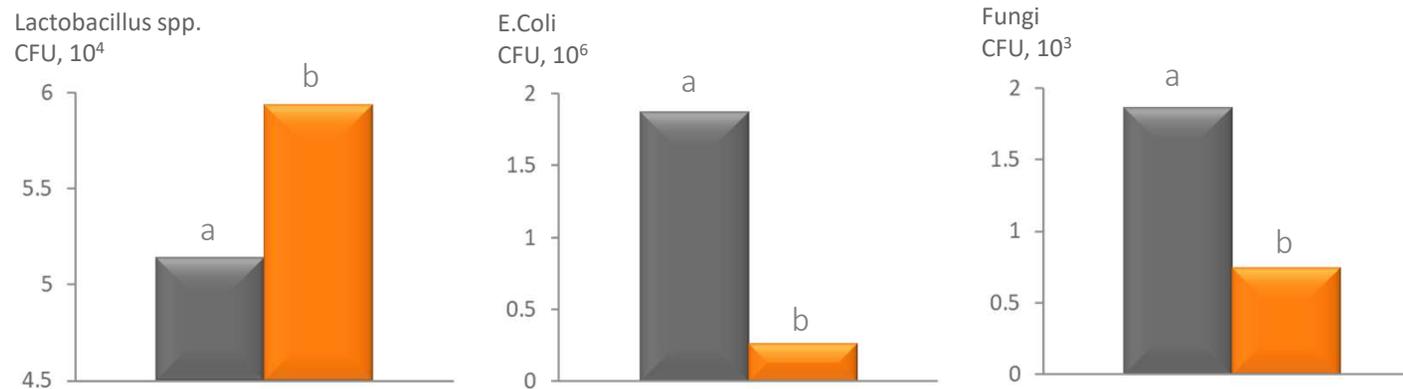
Muc2 expression rel. infected control (fold change)



CLDN3 & OcIn expression rel. control in ileal mucosa (fold change)

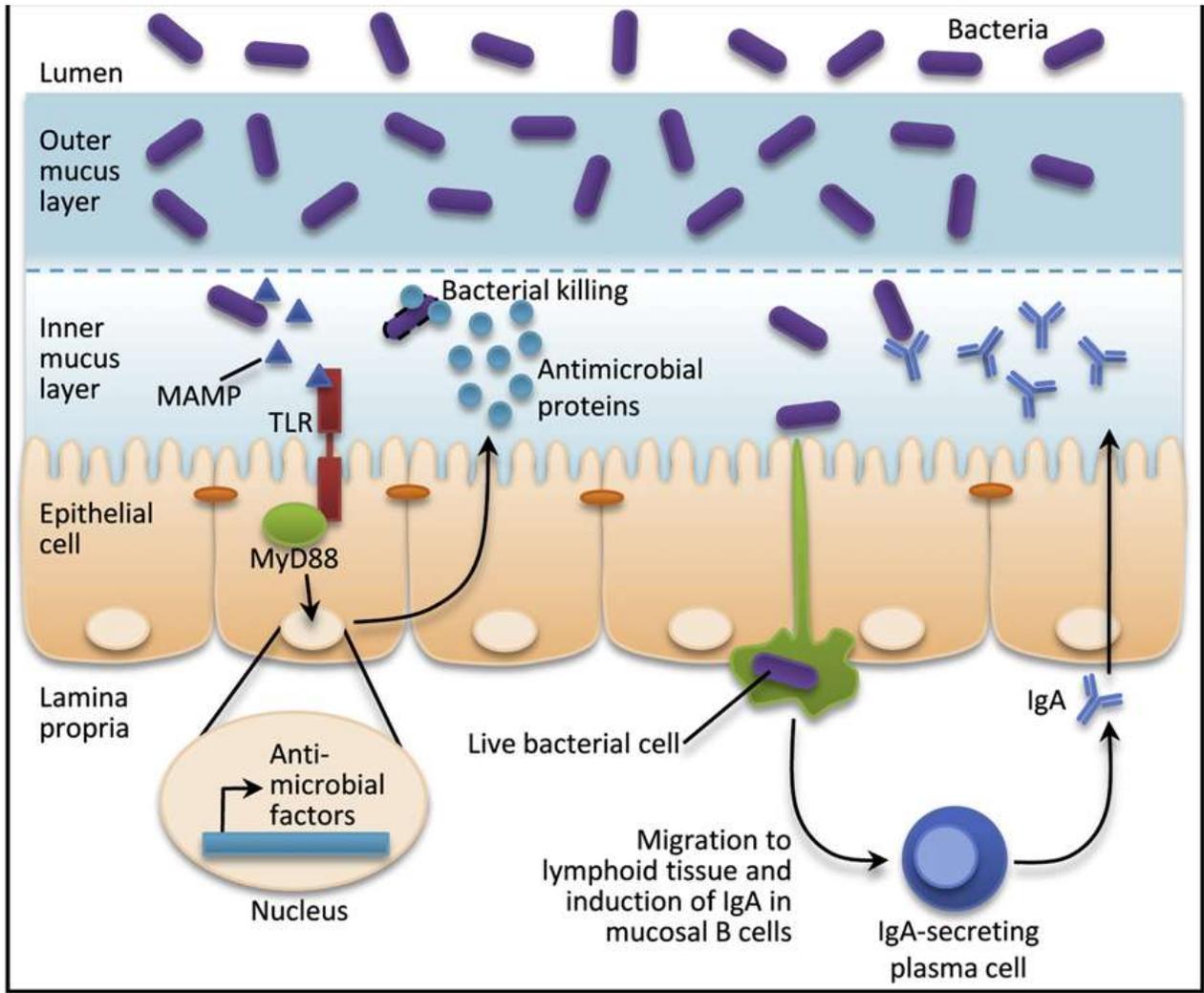


## EFFECTO INDIRECTO DEL CAMBIO DE LA PRODUCCIÓN DE MOCO INDUCIDO POR BIOACTIVOS



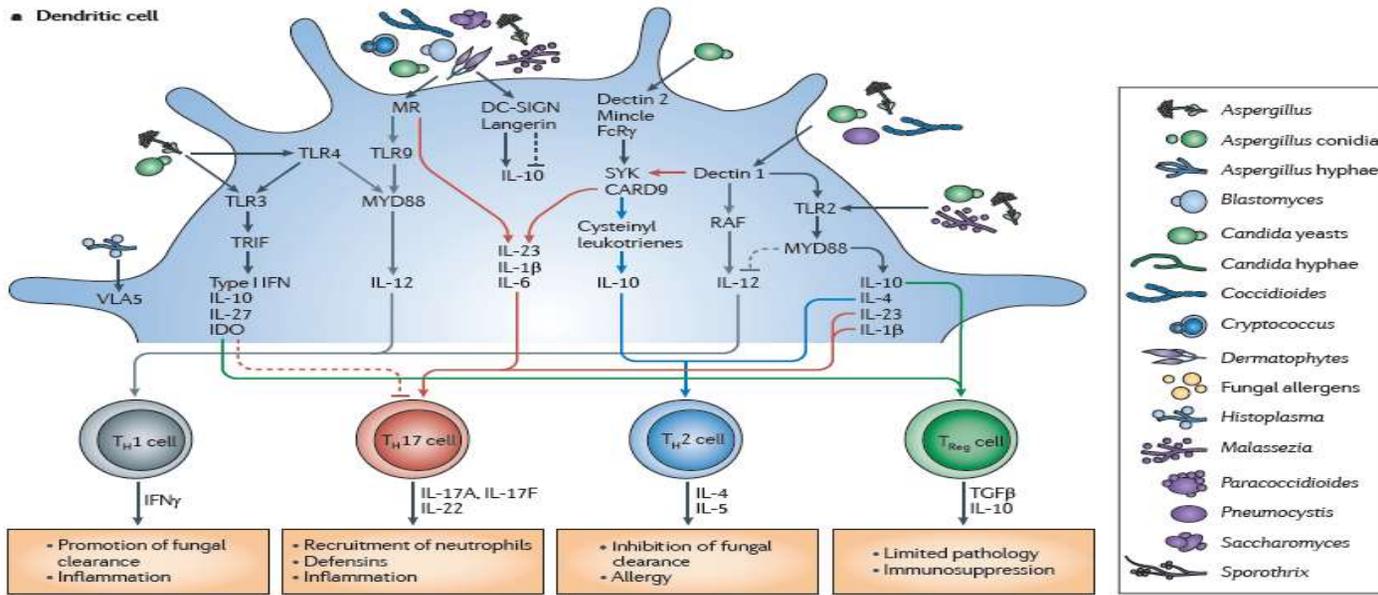
■ Negative control  
■ Capsicum-carvacrol-cinamaldehido®

a, b,  $P < 0.05$   
• Jamroz et al., 2005

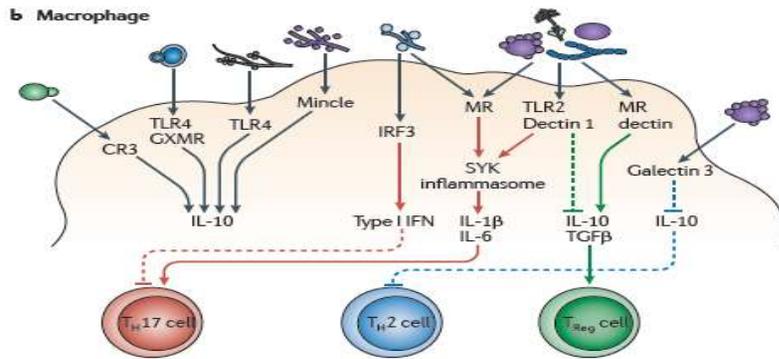


# INTERACCIÓN DEL SISTEMA INMUNE Y LA MICROFLORA EN EL INTESTINO

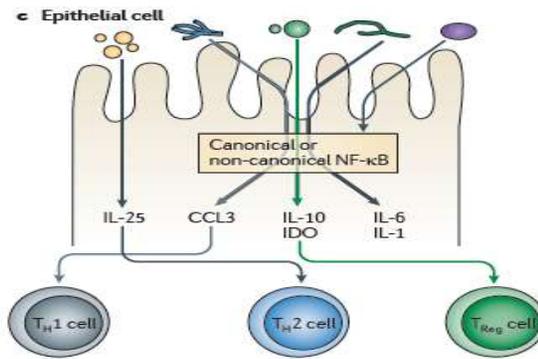
**a Dendritic cell**



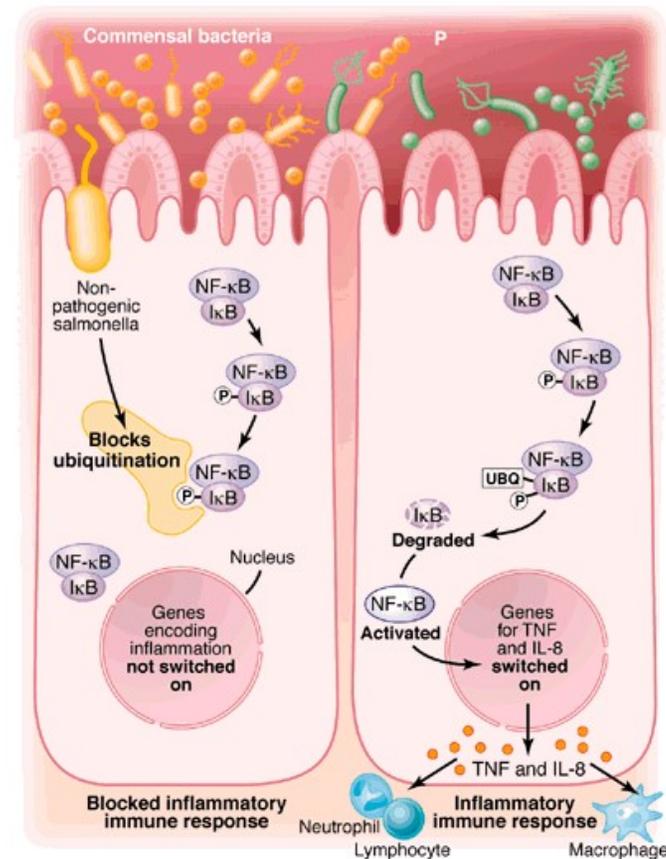
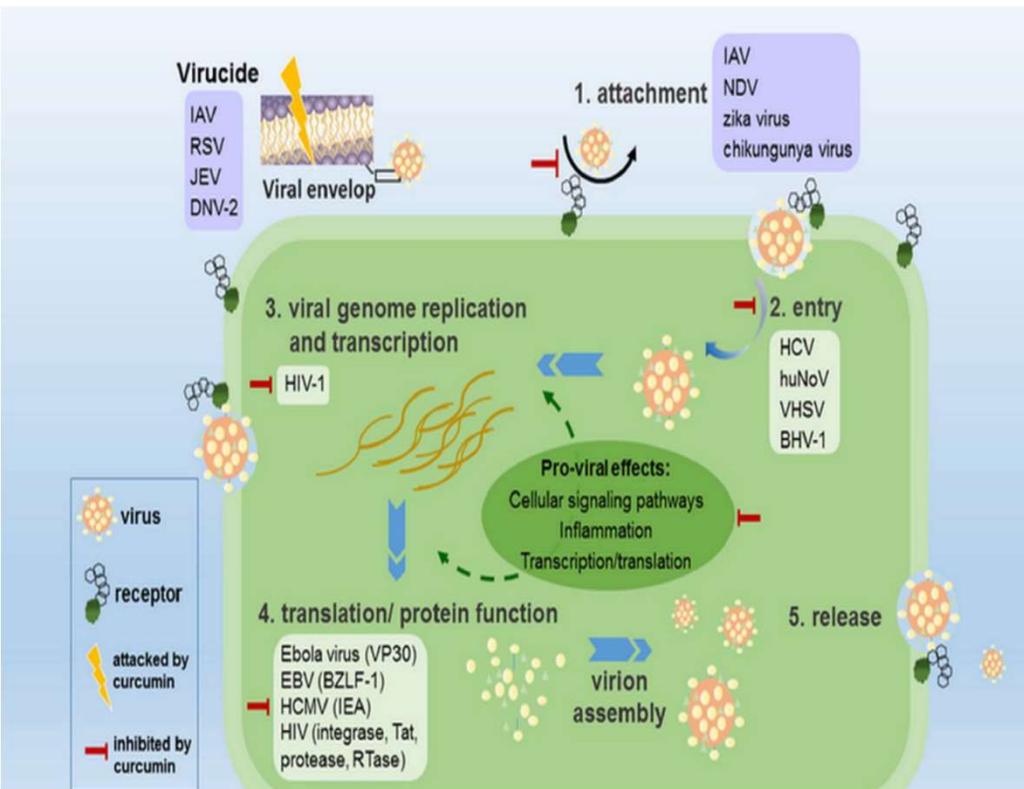
**b Macrophage**



**c Epithelial cell**



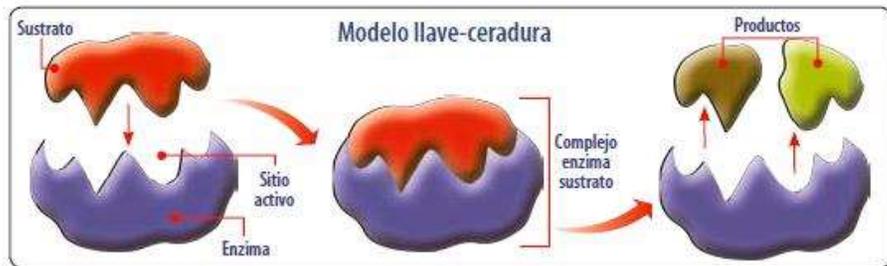
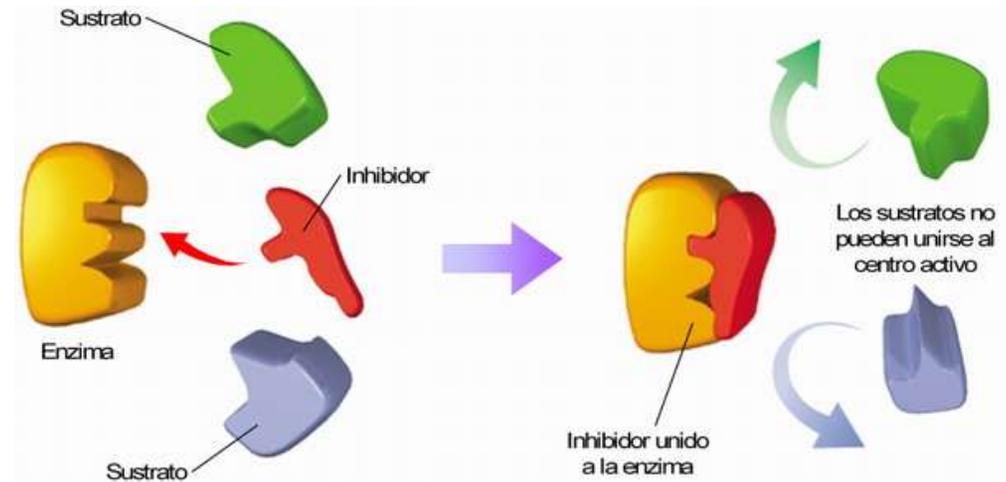
# MICROFLORA PATÓGENA “UTILIZA” LAS RESPUESTAS CELULARES



Antiviral potential of curcumin

Donv Mathew, Wei-Li Hsu\*  
*Journal of Functional Foods* 40 (2018) 692–699

# MODELO BIOLÓGICO: LLAVE-CERRADURA

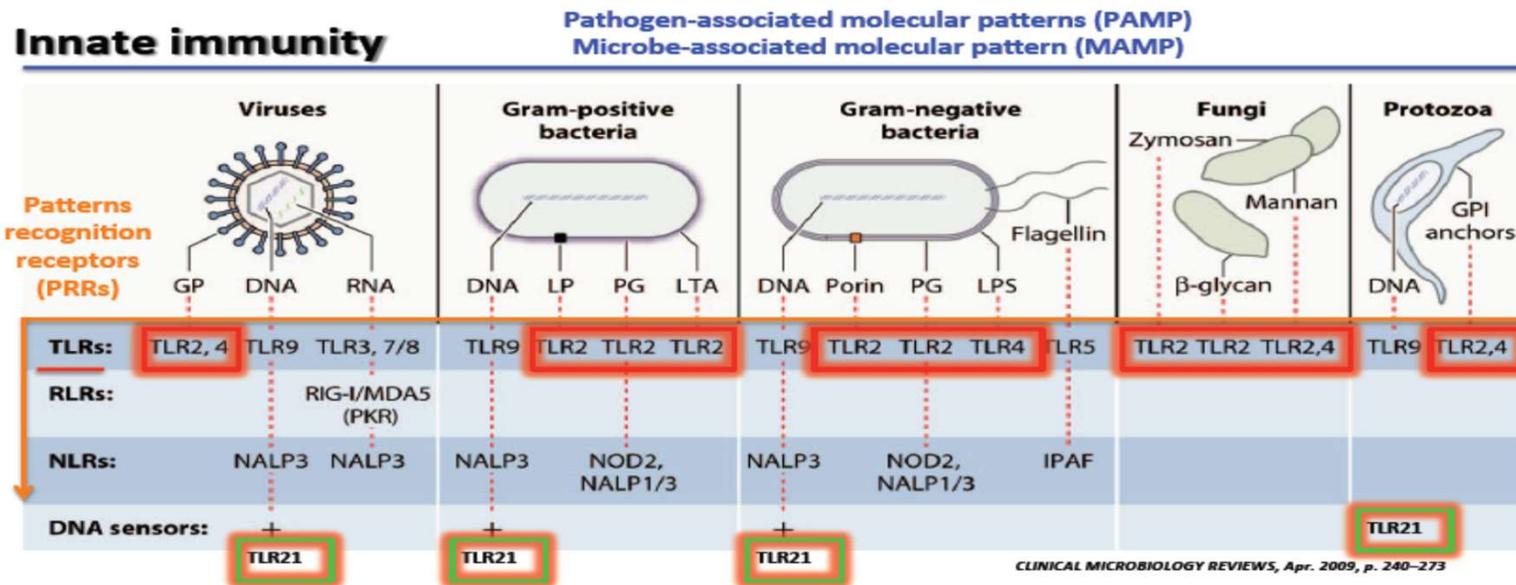


**Patron Molecular Asociado a Patogenicidad ( PAMP )**

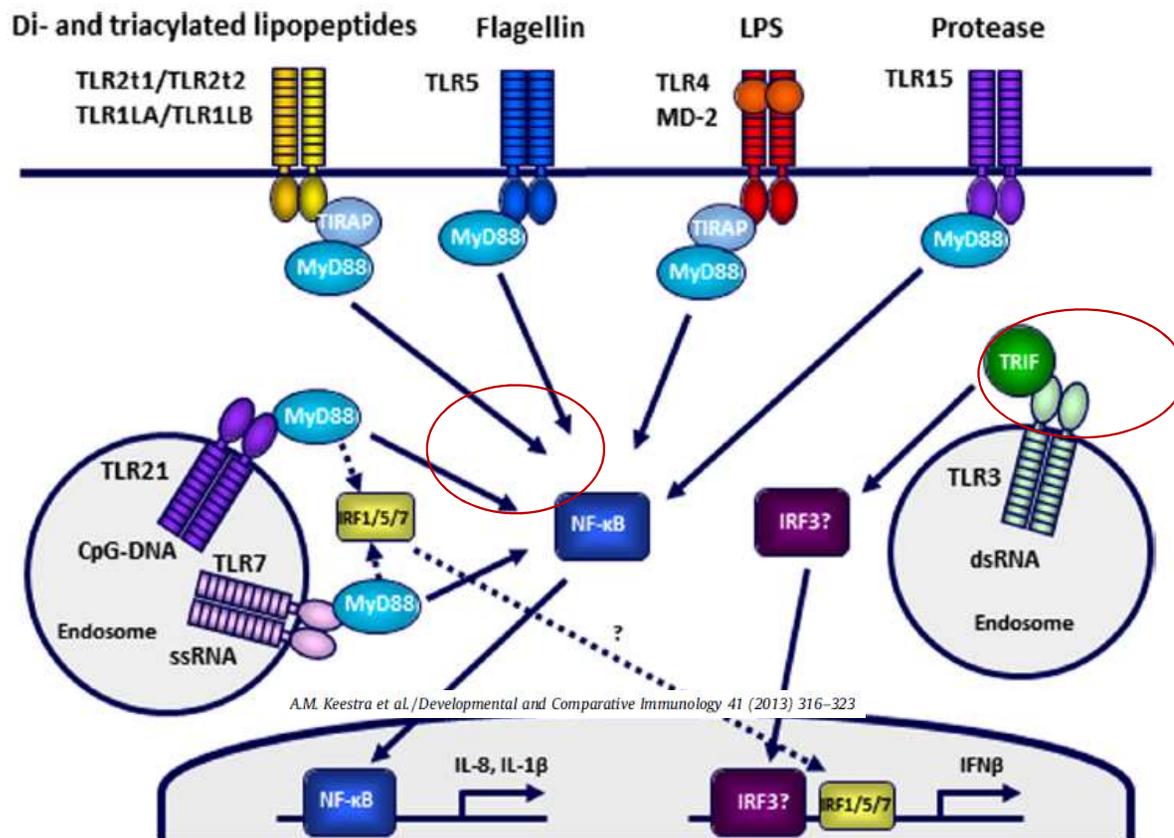
**Patron de Reconocimiento de Patógenos ( PRP )**

# PAMP SON ESTRUCTURAS MOLECULARES COMUNES A VARIAS ESPECIES DE LA MICROBIOTA

## Introduction



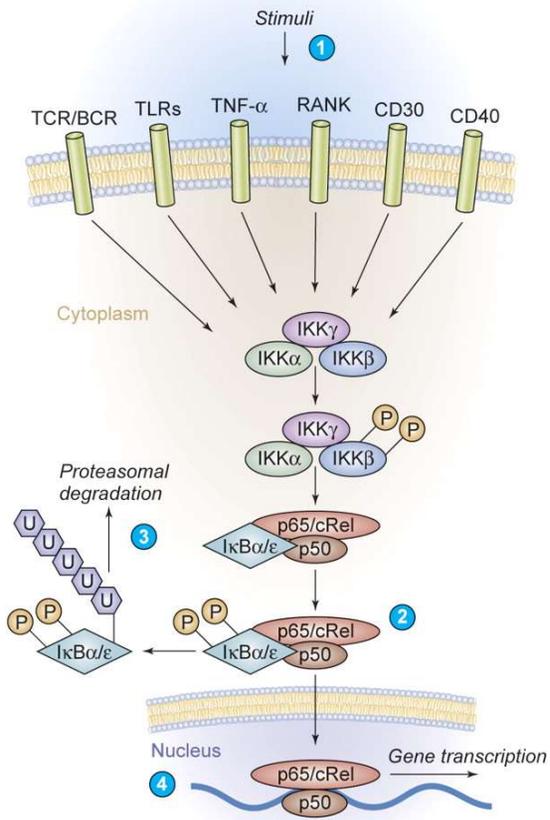
# PRP CELULARES: TLRs ESPECIFICIDAD PARA PAMPs



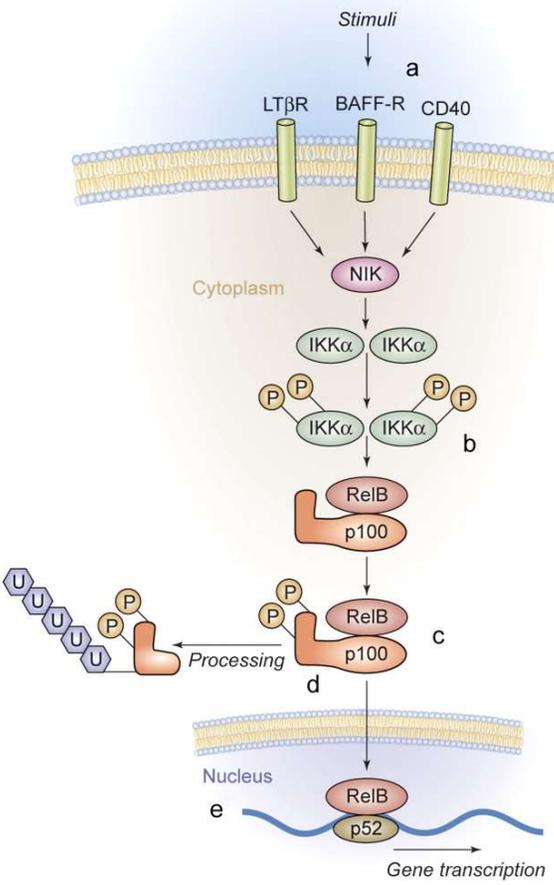


# NFκB: ACTIVACIÓN PARA INICIAR EL PROCESO DE SÍNTESIS LINFOCINAS

A) Activation of the Canonical NF-κB Pathway

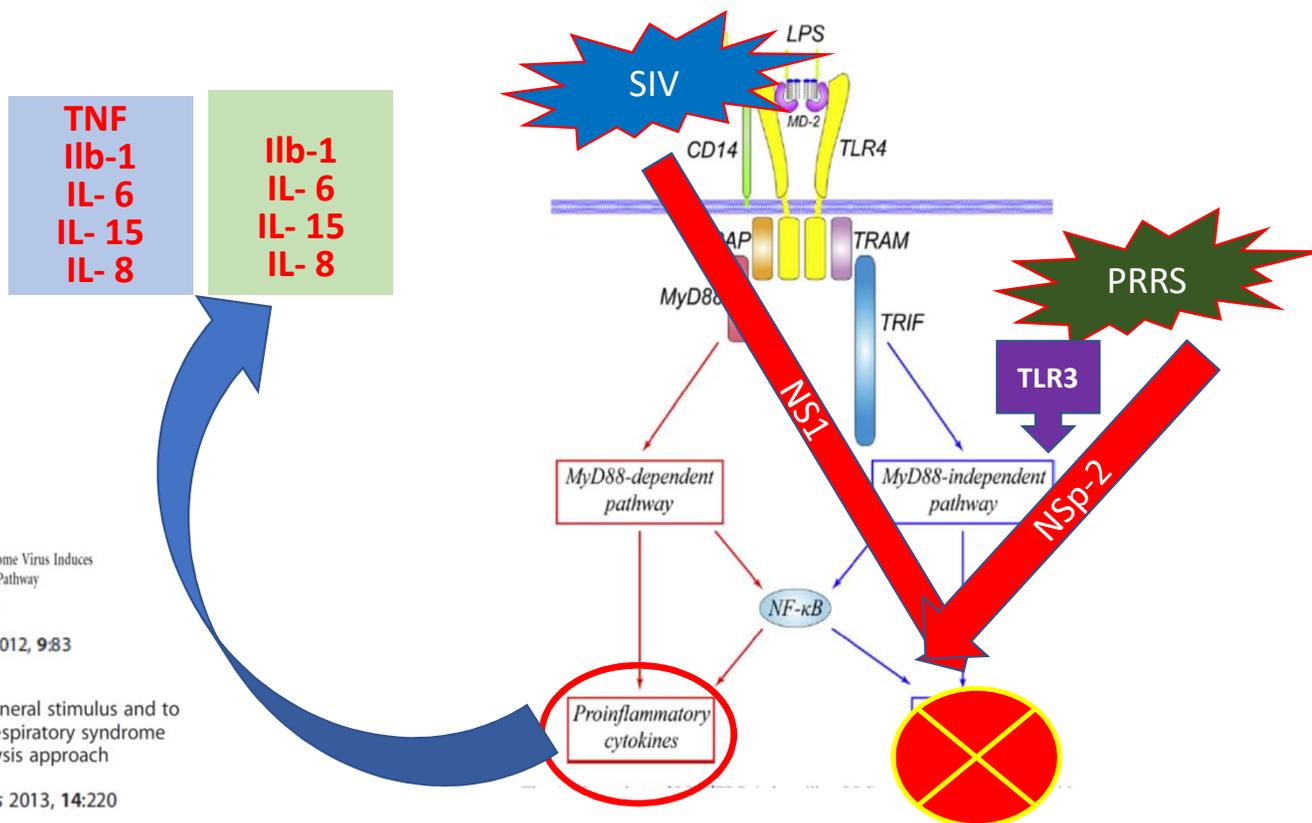


B) Activation of the Alternative NF-κB Pathway



IL1-β  
IL-6  
IL-15  
TNF  
INTERFERON

# BLOQUEO DE LA PRODUCCIÓN DE INTERFERON POR LAS PROTEINAS ESTRUCTURALES DE VIRUS



Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Induces Interleukin-15 through the NF-κB Signaling Pathway

Yi Fu,<sup>1\*</sup> Hong Qian,<sup>1\*</sup> Huihui Zhang,<sup>2</sup> Jun Hou,<sup>1\*</sup> Jun Tang,<sup>1\*</sup> and Wenhai Fang<sup>1\*</sup>

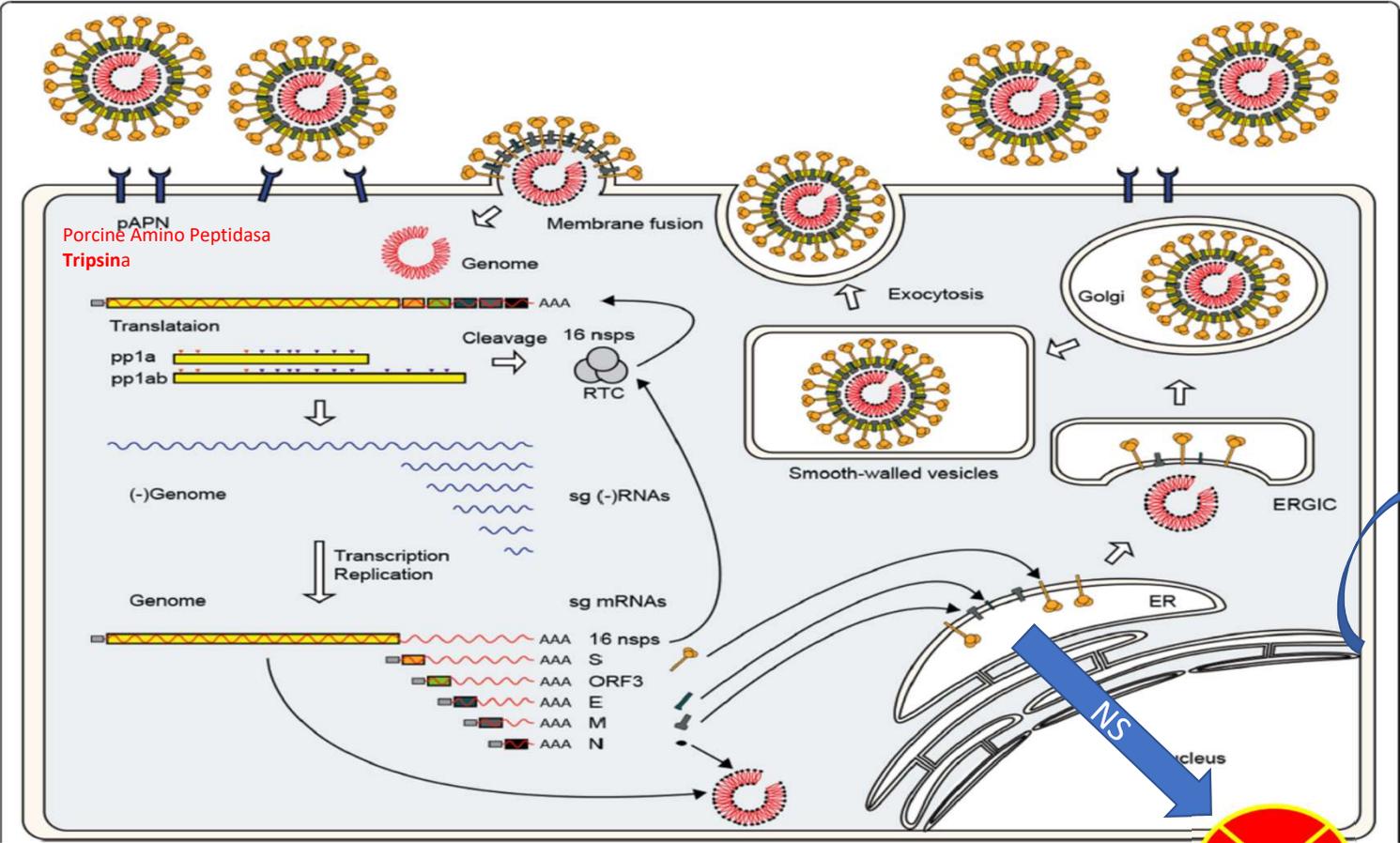
Fang *et al. Virology Journal* 2012, **9**:83

Pig immune response to general stimulus and to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection: a meta-analysis approach

Badaoui *et al. BMC Genomics* 2013, **14**:220

Chen Lu, 2007

# PED EFECTOS DEL CONTROL DE LA RESPUESTA CELULAR



**TNF**  
**INCREMENTO**  
**ENZIMAS PARA LA**  
**APOPTOSIS**



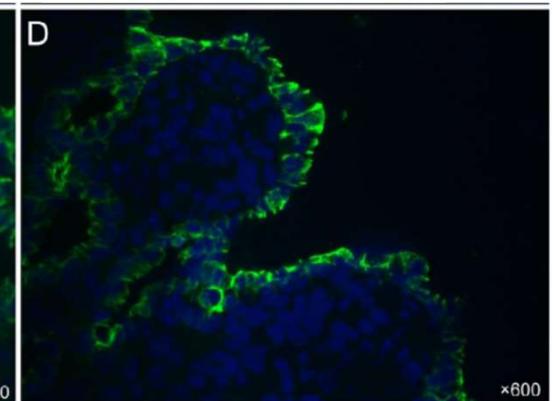
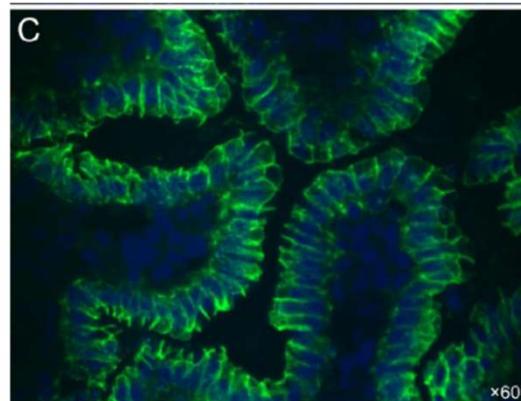
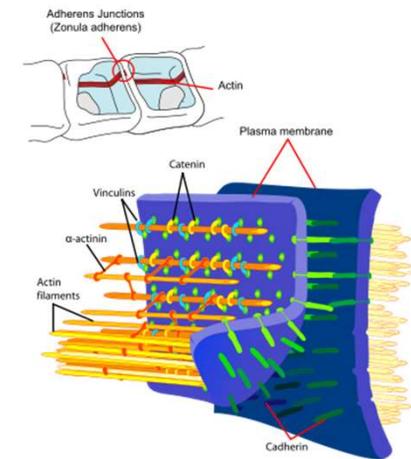
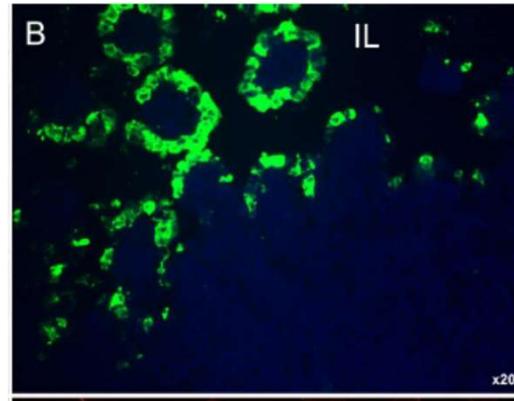
Porcine epidemic diarrhea virus: An emerging and re-emerging epizootic swine virus

Lee *Virology Journal* (2015) 12:193

# EFFECTOS SECUNDARIOS DE LA INFECCIÓN POR PEDV

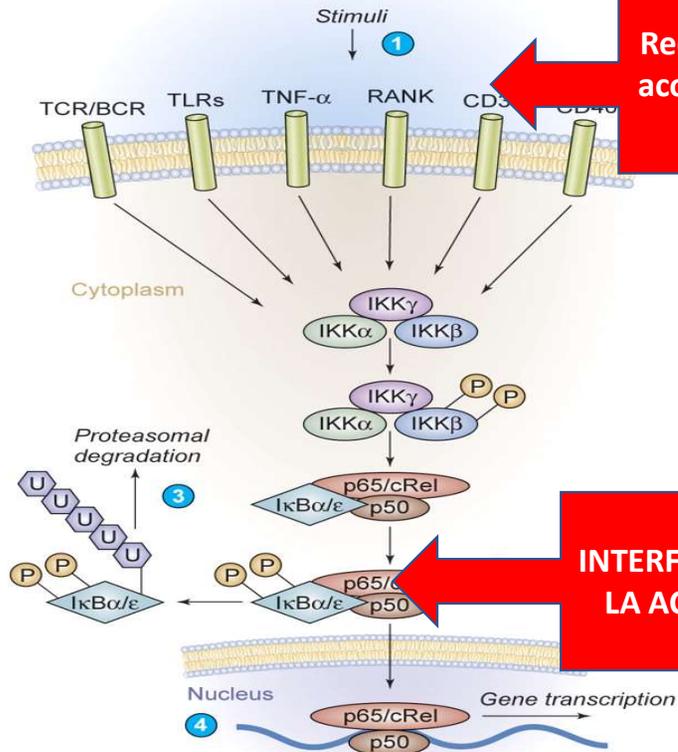
PEDV induce mortalidad de células caliciformes.  
Implica menor producción de moco

Menor cantidad de moco causa reducción  
De productos bacterianos (AGV)  
Se reduce a su vez la UNIONES FUERTES  
Entre enterocitos  
Permite infecciones secundarias

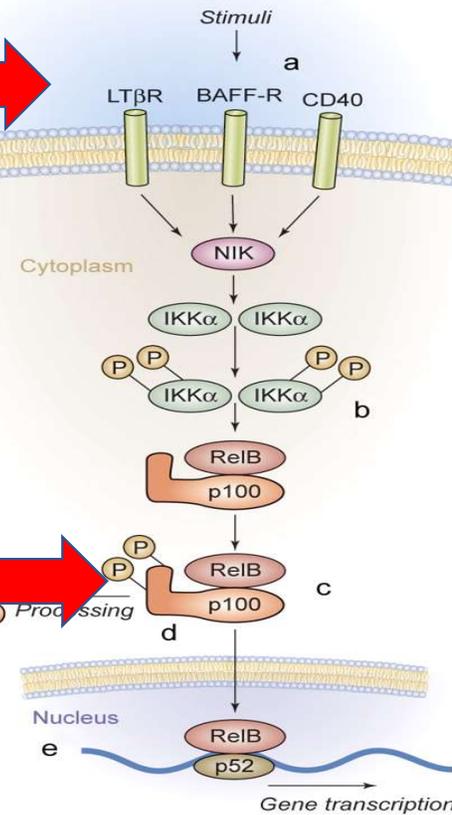


# EFECTOS PROBADOS DE LOS BIOACTIVOS EN LAS RUTAS DE RESPUESTA A PRP

A) Activation of the Canonical NF- $\kappa$ B Pathway



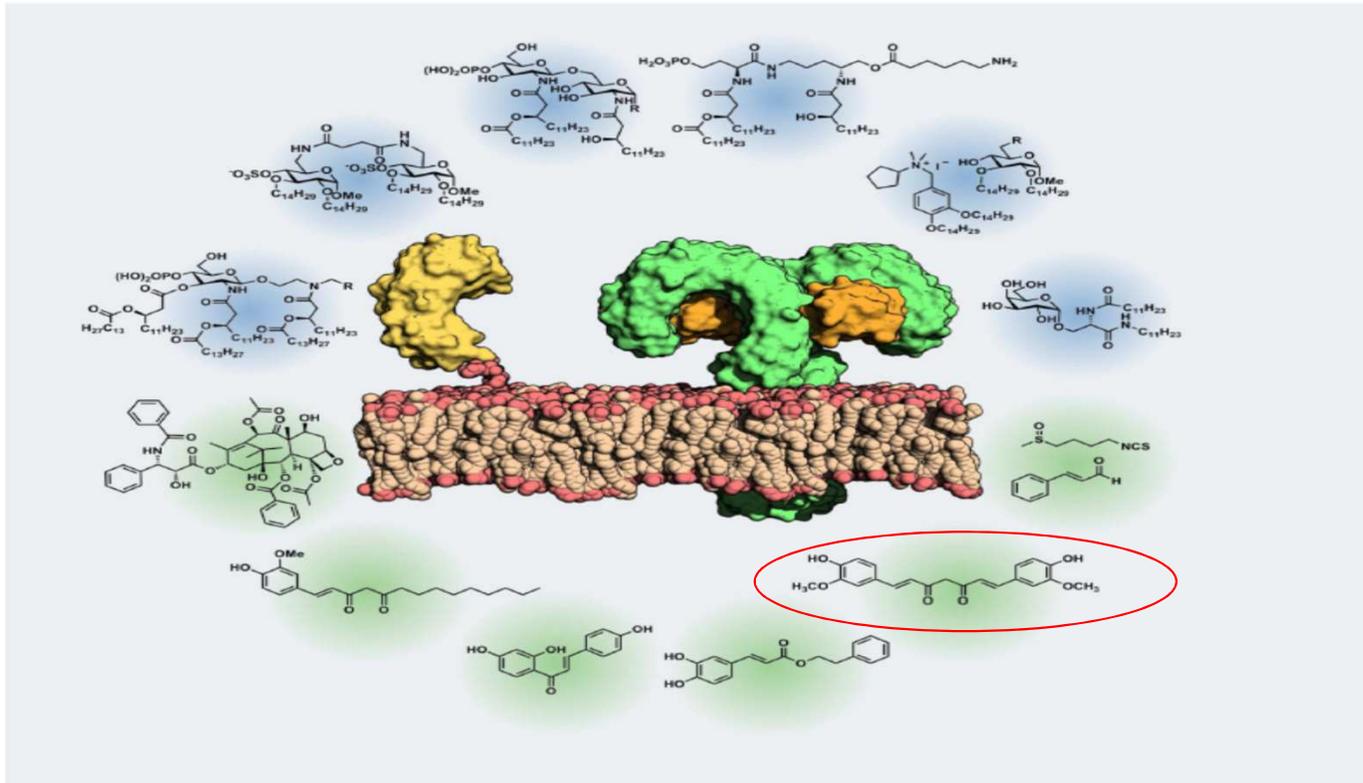
B) Activation of the Alternative NF- $\kappa$ B Pathway



Reducción de  
acoplamiento  
viral

INTERFERENCIA EN  
LA ACTIVACIÓN

# DIFERENTES MOLÉCULAS INHIBIDORAS DEL RECEPTOR TLR4

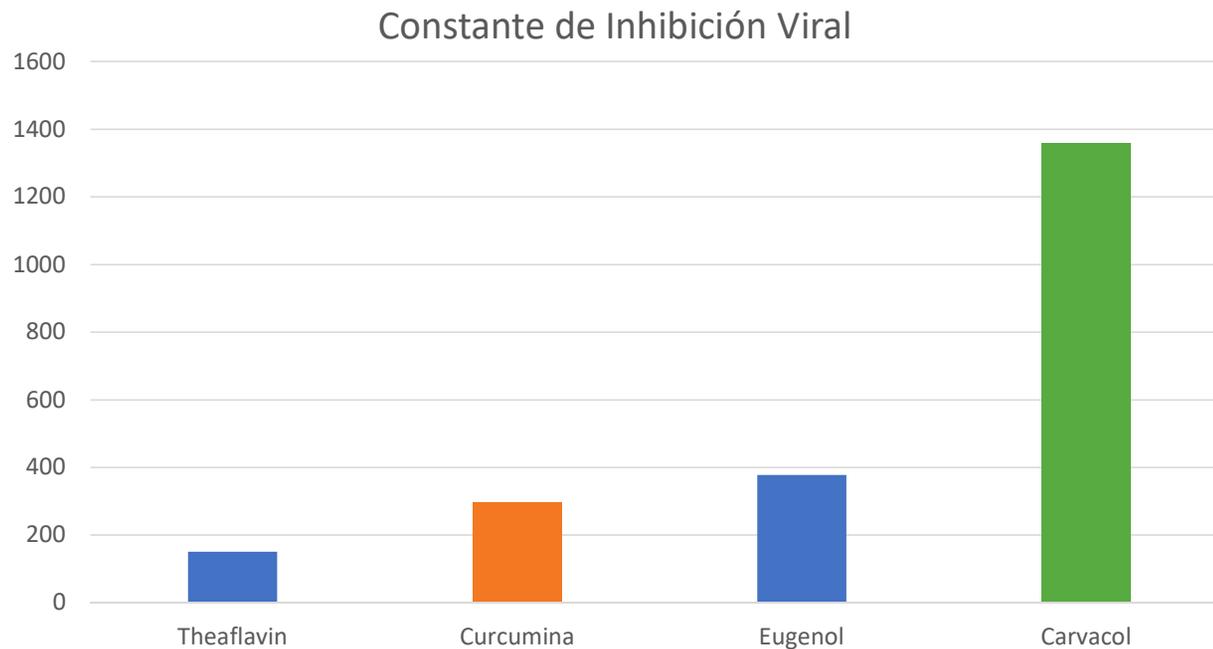


Sintéticas

Naturales

**Figure 2.**  
Pictorial representation of the TLR4 receptor complex (including MD2 and CD14 co-receptors) and some natural (green background) and synthetic (blue background) TLR4 ligands.

# BIOACTIVOS: INHIBICIÓN DE REPLICACION VIRAL



Zhu HT, Bian C, Yuan JC, Chu WH, Xiang X, Chen F, Wang Cs, Feng H, Lin JK (2014) Curcumin attenuates acute inflammatory injury by inhibiting the TLR4/MyD88/NFkB signaling pathway in experimental traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation* 11:59

# BIOACTIVOS: CURCUMA DISMINUYE EL DESARROLLO DEL VIRUS DE INFLUENZA

**Table 1.** Virus yields in embryonic eggs infected with influenza virus pre-treated with curcumin.

	Curcumin (+)		Curcumin (-)	
	Yield of virus progeny: HA titer (2 <sup>nt</sup> )		Yield of virus progeny: HA titer (2 <sup>nt</sup> )	
Virus used	18 hpi	24 hpi	18 hpi	24 hpi
50 pfu	0.00	0.00	0.00	8.25±1.71
5000 pfu	0.00	0.00	5.5±0.58	9.75±1.26

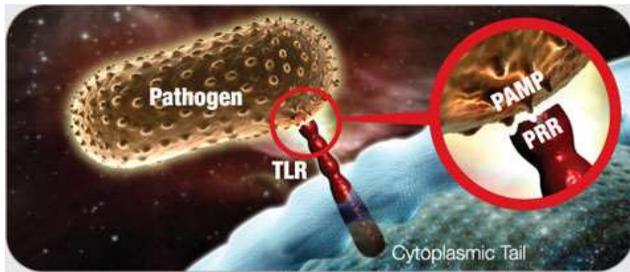
\*The values of HA titer represent the mean ± S.E.M. for four independent experiments.  
doi:10.1371/journal.pone.0062482.t001

## Inhibition of Enveloped Viruses Infectivity by Curcumin

Tzu-Yen Chen<sup>1\*</sup>, Da-Yuan Chen<sup>2\*</sup>, Hsiao-Wei Wen<sup>3</sup>, Jun-Lin Ou<sup>2</sup>, Shyan-Song Chiou<sup>2</sup>, Jo-Mei Chen<sup>2</sup>,  
Min-Liang Wong<sup>1</sup>, Wei-Li Hsu<sup>2\*</sup>

May 2013 | Volume 8 | Issue 5 | e62482

# BIOACTIVOS EN LA EXPRESION DE TLR

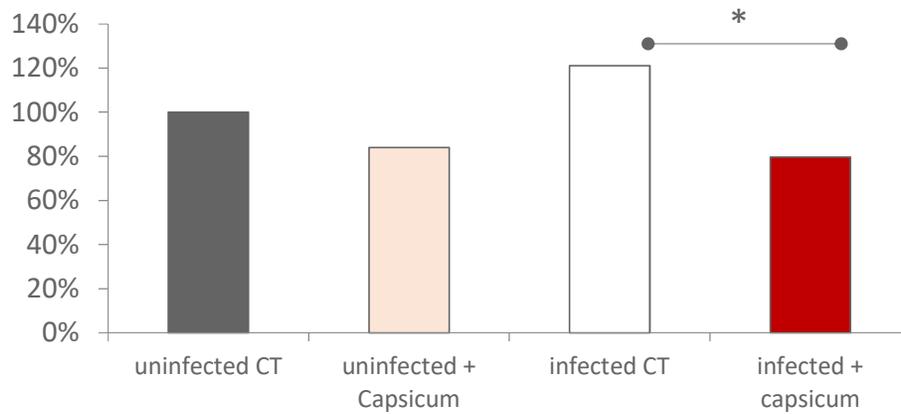


*E. coli*



- TLR4: toll like receptor targeting LPS from Gram - bacteria

TLR4 expression rel. control in ileal mucosa (fold change)



\*,  $P < 0.05$

Liu et al. 2014. Journal of Animal Science 92:2050

Liu et al. 2014. Journal of Animal Science 92:3426

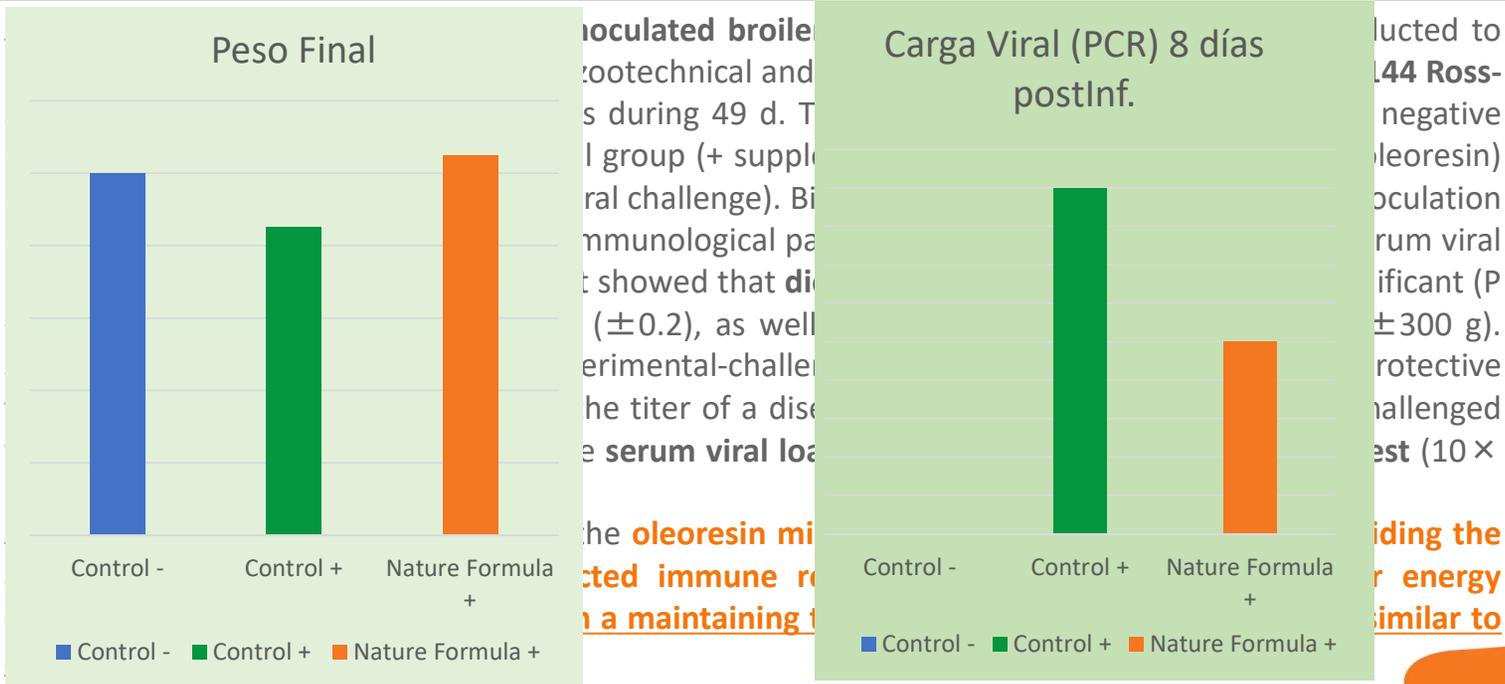
# XTRACT® Nature para influenza aviar

## Experiencia America Latina



### Effect of dietary oleoresins on the performance of broilers experimentally challenged with avian influenza virus

A. Casarin, Prashant K. Mishra\*, R. Garcia-Ortega and P. A. Sánchez, Grupo Nutec, México.

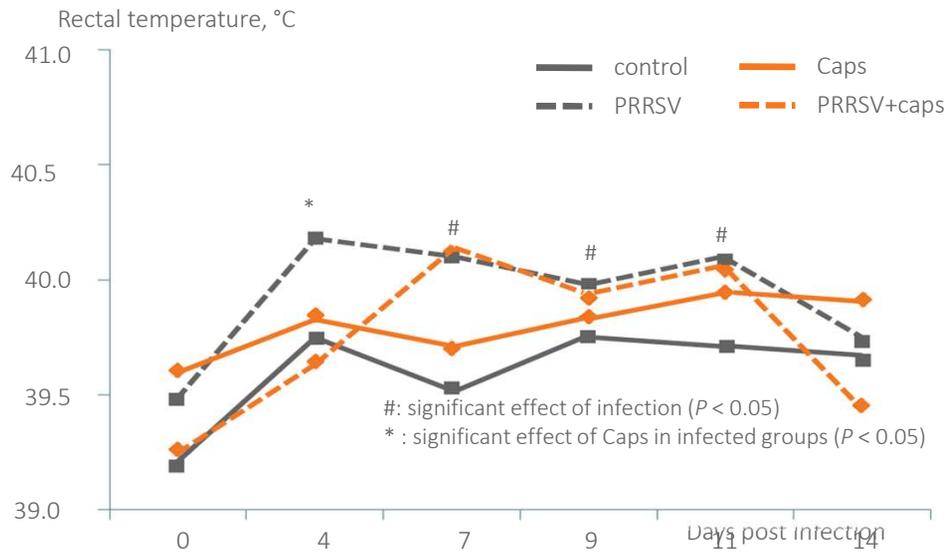


Pancosma's client oral : XTRACT® Nature Oral # 244, July 30, 2015, Session: Immunology II,



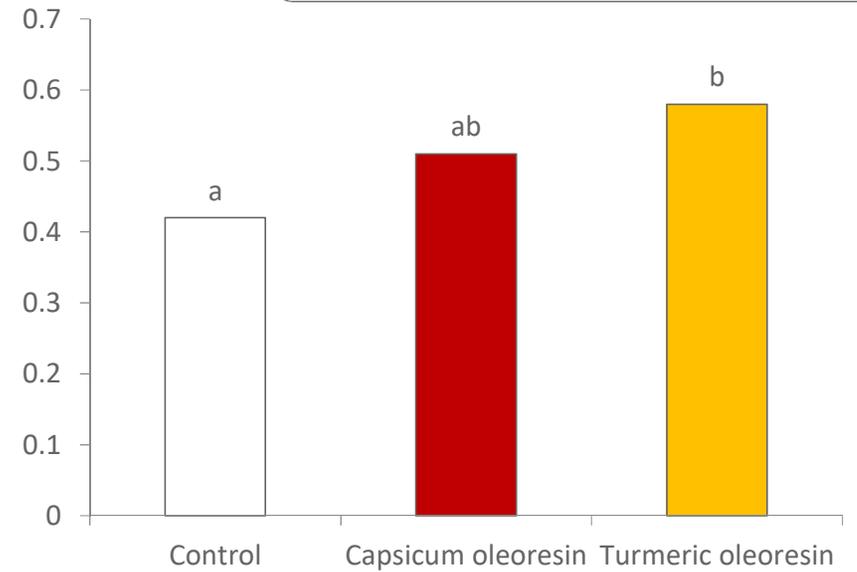
# BIOACTIVOS EN LA EXPRESION DE EFECTOS VIRALES

*PRRSv – challenge model*



G:F 0 to 14 DPI

- weaned piglets (6.3 kg BW)
- 0 vs 10 g/t capsicum oleor vs 10 g/t turmeric oleor.
- sham group vs. challenge with PRRSV



a, b,  $P < 0.05$

Liu et al. 2013. Journal of Animal Science

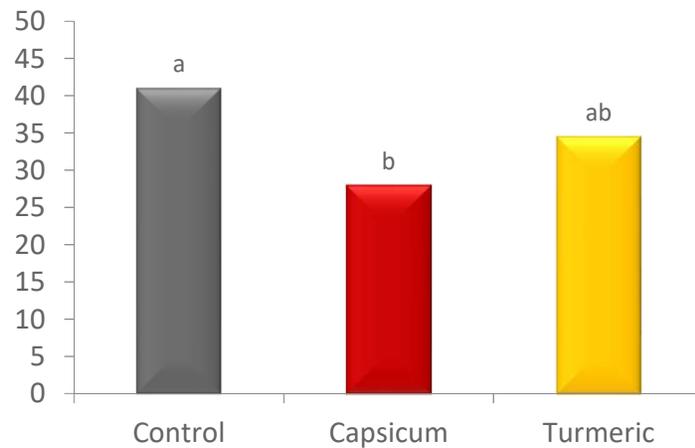
# BIOACTIVOS EN LA EXPRESION DE EFECTOS VIRALES



- Weaned piglets (7.8 kg BW at 21d)
- 0 vs 10 g/t capsicum oleor vs 10 g/t turmeric oleor.
- Control group vs. challenge with PRRSV

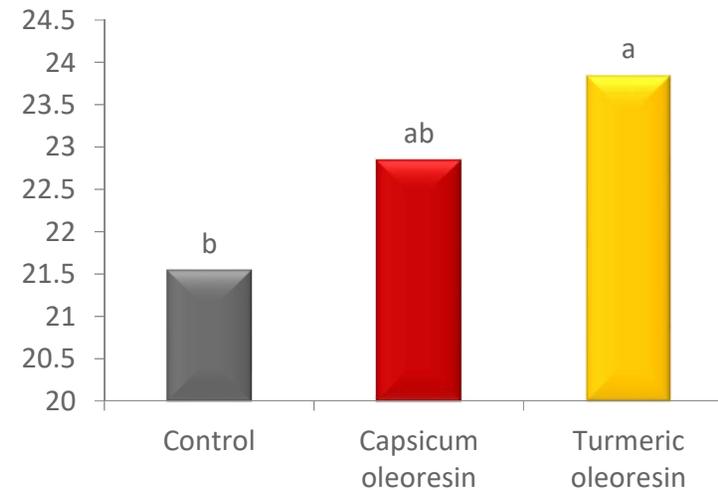
- *CRP : Proteína C – reactiva, CRP es usada principalmente como una marcador de la inflamación.*

CRP 14 DPI (µg/mL)



- *Ct El valor de Ct es inverso a la cantidad de virus \**

Viral load in serum 14 DPI, Ct



a, b,  $P < 0.05$

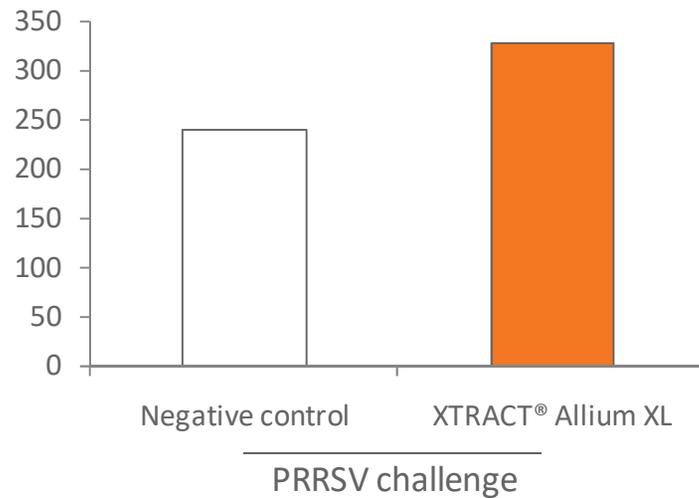
Liu et al. 2013. Journal of Animal Science

# BIOACTIVOS EN LA EXPRESION DE EFECTOS VIRALES

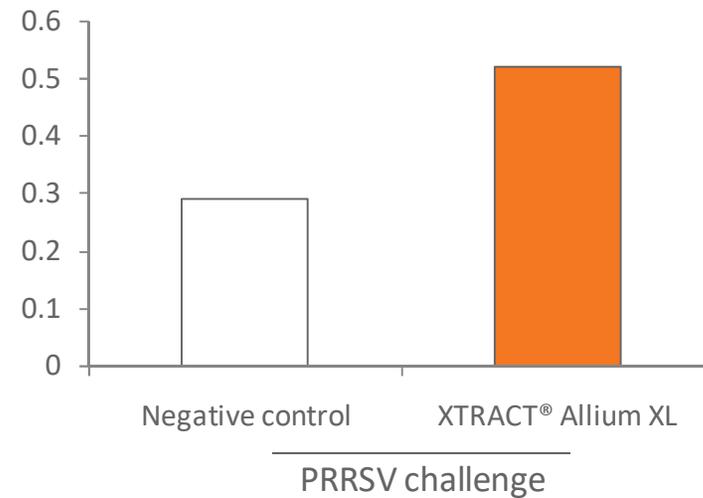
- Weaned piglets (initial BW = 7.8 kg)
- 0 vs 50 g/t XTRACT® Allium XL
- Intranasal Challenge with PRRSV after 7 days of trial (= 0 Day post infection, DPI)

**PRRSV** = Porcine Reproductive & Respiratory Syndrome Virus (in Lungs)

ADG 0-7 DPI (g)



G:F 0-7 DPI (g/g)



- \*,  $P < 0.05$
- Liu et al., 2011

# SUMARIO

- **Receptores moleculares en el exterior e interior de las células son necesarios para activar respuestas específicas cuando se les estimula**
- **Las células enteroendocrinas del intestino con receptores a los azúcares y AGV son indispensables para la multiplicación de los enterocitos**
- **Los receptores TRP en las membranas producen respuestas celulares diversas. En el intestino están relacionados (TRPV1) con la producción de moco. El moco es indispensable para el control de la microbiota**
- **Los receptores de Patrones Moleculares de Patogenicidad (como los TLR) están relacionados con la respuesta del sistema inmune a los patógenos que presentan los Patrones Moleculares Asociados a Patógenos**

# SUMARIO

- Los virus como PEDV, SIV, PRRS controlan la respuesta provocada al estimular TLR de manera que se incremente la producción de NFkB
- El NFkB debería aumentar la producción de varias interleucina, sin embargo estos virus bloquean la producción de Interferon lo que aumenta su posibilidad de atacar más células
- El NFkB si aumenta la producción de linfocinas que incrementan el proceso inflamatorio (aumento de temperatura, disminución de consumo de alimento) , producen la muerte celular por apoptosis (epitelios respiratorio e intestinal) permitiendo infecciones secundarias
- Los BIOACTIVOS pueden interferir la capacidad de adhesión de los virus y también disminuir la activación de enzimas que llevan a la activación de NFkB Estos efectos reducen el daño provocado por los virus como se ha demostrado en numerosos trabajos. El efecto es DOSIS DEPENDIENTE.

# Integración de los factores de la inflamación para comprender su modulación: Mensajeros celulares, Necrosis-apoptosis, Proteínas de fase aguda, Omegas 3 y 6, Estrés oxidativo.

**Raúl Ricardo Aguila Reyes.**  
MVZ, EPAP, MC.  
Para ECO ANIMAL HEALTH.

## CONTEXTO.

Los vertiginosos avances tecnológicos han provocado la hiper especialización de las ciencias, pero esto ha fragmentado el conocimiento de tal forma que: a mayor conocimiento del detalle (>), menor conocimiento del todo (<); y lamentablemente, esto lleva a la pérdida de practicidad. Por otro lado, los temas resultan ya muy complejos, pero los científicos investigadores casi no se esfuerzan en comunicar sus conocimientos, en forma didáctica, al resto de profesionistas que irremediamente están conectados con dichas materias, pero que por obvias razones no dominan.

La presente conferencia se ha preparado para afrontar dos enormes retos:

- 1) **Integrar** en muy poco tiempo de exposición (50 minutos), los diferentes factores que intervienen en la inflamación, esto con el fin de comprender los alcances del término "**modulación de la inflamación**". Este término, que resulta ambiguo, es citado frecuentemente como beneficio de diversos aditivos alimenticios con muy diversos mecanismos de acción; sin embargo, en mi opinión no se explica con la suficiente claridad al gremio de veterinarios (lo he sufrido "en carne propia"). Por cierto, modular no significa atenuar, significa modificar o variar (agregar o disminuir algo, todo depende de las condiciones y del objetivo).
- 2) **Explicar con claridad.** Esto requiere esforzarse al máximo, y es que, se necesitan conocimientos previos de química, bioquímica, metabolismo, fisiología, patología, inmunología, etcétera, que muchas veces ya han sido olvidados, nunca fueron bien comprendidos o, necesitan actualización por parte del veterinario. Una frase atribuida a Albert Einstein ilustra muy bien el reto en cuestión: "*No entiendes realmente algo... a menos que seas capaz de explicárselo a tu abuela*".

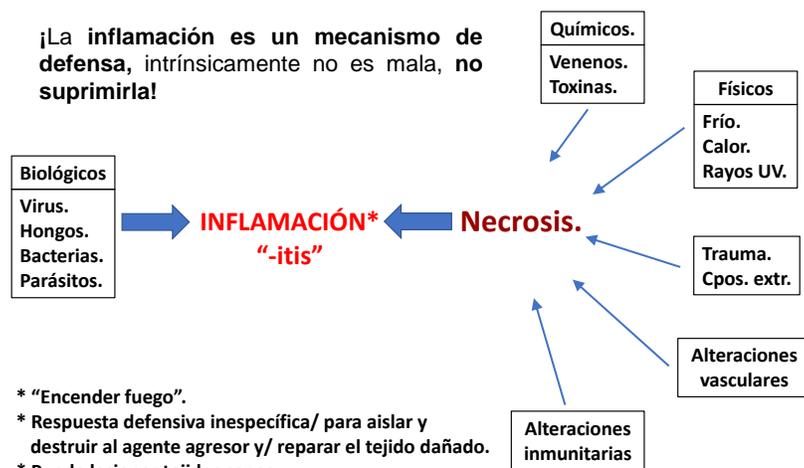
Los temas son complejos y bastos, el enfoque que aquí se da es el de: comprender las bases.

## INFLAMACIÓN.

Es un tema básico de patología estudiado en la licenciatura de Medicina Veterinaria, entonces sólo bastará un pequeño recordatorio; sin embargo, al igual que en todas las ciencias biológicas se han dado enormes avances en fisiología molecular.

### Inflamación y muerte celular.

¡La inflamación es un mecanismo de defensa, intrínsecamente no es mala, no suprimirla!



\* "Encender fuego".

\* Respuesta defensiva inespecífica/ para aislar y destruir al agente agresor y/ reparar el tejido dañado.

\* Puede lesionar tejidos sanos.

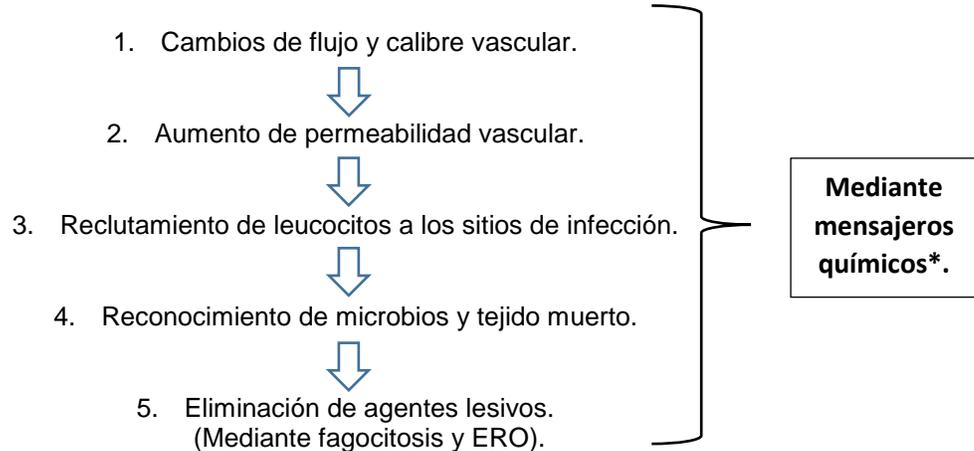
Este esquema relaciona la inflamación con la muerte celular porque se abordará más adelante. Confío en que cualquier veterinario comprende este esquema de primera vista.

- 1) Hay factores biológicos que directamente provocan inflamación pues, por su sola presencia son reconocidos como extraños.
- 2) Hay otros factores que provocan muerte de células (necrosis) y esto desencadena la respuesta inflamatoria
- 3) Es importantísimo recordar que la **inflamación es un mecanismo de defensa** (sobrevivencia), intrínsecamente no es mala, **entonces no se debe suprimir.**

Ya los sabios griegos reconocían los 4 signos cardinales de la inflamación: Calor, rubor, dolor, tumor (“hinchazón”); en el siglo XIX se agregó el quinto factor: pérdida de la función.

Existe la **inflamación aguda** (cambios hemodinámicos y de la permeabilidad vascular, leucocitos y ciertos mediadores de la inflamación); y la **inflamación crónica** (macrófagos, linfocitos, células plasmáticas, etc. y también, ciertos mediadores de la inflamación). Es en el tema de los mediadores (mensajeros) de la inflamación donde la ciencia sigue avanzando y tratando de **manipular la inflamación**, incluso a nivel de genes (para lo cual también ciertos aditivos proclaman generar respuestas favorables).

**Los procesos secuenciales de la inflamación aguda se sintetizan así:**



*\*Se han descrito muchos mediadores y todavía no se comprende por completo cómo funcionan de forma coordinada. Cuando Lewis describió la importancia de la histamina en la inflamación, se pensaba que un mediador era suficiente. ¡Ahora nos asfixia el número de los mismos! Sin embargo, a pesar de este gran número, es posible que unos pocos mediadores sean los más importantes para las reacciones de la inflamación aguda in vivo. La redundancia de mediadores y sus acciones garantiza que esta respuesta protectora sea robusta y no sea posible alterarla con facilidad.*

En la práctica clínica, la causa de la inflamación determina si el objetivo terapéutico debe ser reducir o inducir la inflamación. Todo depende, por ejemplo:

1. En las infecciones, el tratamiento se enfoca en aumentar la respuesta del hospedador y eliminar la infección, lo que justifica la costumbre de emplear compresas calientes y hacer gárgaras en casos de faringitis (dolor de garganta).
2. En los traumatismos y las enfermedades inflamatorias crónicas, la inflamación no tiene un objetivo útil y se trata de reducirlo mediante la aplicación de frío (en los traumatismos) y fármacos antiinflamatorios.
3. En algunas localizaciones, como la córnea, puede ser deseable suprimir incluso la inflamación aguda para garantizar que se mantenga la transparencia corneal.

## MENSAJEROS DE LA INFLAMACIÓN.

Son pequeñas moléculas con funciones muy específicas, hay receptores para ellos en membranas de otras células. Por su naturaleza química se clasifican así:

- 1) **Lípidos** (Omega 6 → ácido araquidónico → eicosanoides).
  1. Prostaglandinas.
  2. Leucotrienos.
  3. Trombohexanos.
  
- 2) **Aminoácidos modificados** → aminas vasoactivas:
  1. Histamina (del aminoácido histidina).
  2. Serotonina (“suero” del aminoácido triptófano).
  
- 3) **Pequeñas proteínas.**
  1. Citocinas.
  2. Factores de crecimiento.
  3. Interleucinas.
  
- 4) **Otros:** Óxido nítrico, ROS, Lisozima, Neuropeptidos.

	Efecto en inflamación.	Mediador.
1	Vasodilatación.	Prostaglandinas. Óxido nítrico. Histamina.
2	Aumento de la permeabilidad vascular.	Histamina y Serotonina. C3a y C5a. Bradiquinina. Leucotrienos C4, D4, E4. Factor Activador de plaquetas (PAF). Sustancia P.
3	Reclutamiento y activación de leucocitos (quimiotaxis).	TNF, IL-1. Quimioquinas. C3a y C5a. Leucotrieno B4. Productos bacterianos (como péptidos N-formilmetil.
4	Fiebre.	TNF, IL-1. Prostaglandinas.
5	Dolor.	Prostaglandinas. Bradiquinina. Sustancia P.
6	Daño tisular.	Enzimas lisosomiales de los leucocitos. Especies de Oxígeno Reactivas (SOR).

En el cuadro de la izquierda se anotan ejemplos de mensajeros celulares clasificados por su efecto en la inflamación.

Queda claro entonces, que un mismo efecto se consigue con diversos mediadores; y por tanto, se deriva de diversos procesos; por ejemplo, el daño a células se puede producir por la lisozima vertida por los leucocitos o bien, por los SOR (Especies de Oxígeno Reactivas), tema que se tratará más adelante como Radicales Libres y Estrés Oxidativo.

### Ejemplo de participación de mensajeros de la inflamación.

Las bacterias *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Actinobacillus pleuroneumoniae* provocan una neumonía auto perpetuante y por tanto crónica:

Colonizan los pulmones de los cerdos → Liberan leucotoxinas → Lisis de neutrófilos y macrófagos → estos liberan mediadores proinflamatorios: **IL-1 $\alpha$** , **IL-1 $\beta$** , **IL-6**, **CXCL-8 (sinónimo de IL-8)** y **leucotrieno B<sub>4</sub>** → Llegan más neutrófilos y macrófagos que son muertos por las leucotoxinas → liberan más mediadores proinflamatorios...se reinicia el ciclo.

Entonces, no cesa la inflamación → no se puede reparar el tejido, se mantiene la pérdida de función → retraso del crecimiento del cerdo. En este caso específico es deseable atenuar la inflamación porque resulta perjudicial para el cerdo.

## NECROSIS, APOPTOSIS Y EFEROICITOSIS.

Hay dos términos relacionados con la muerte celular, las diferencias importantes se muestran a continuación:



### MUERTE CELULAR.



#### 1. Necrosis.

##### • Patológica.

• Se hincha, se destruyen las membranas (de célula y organelos) → salida de enzimas → autólisis, escape de organelos (proteínas) → **Fagocitosis.**

• Atrae componentes de **inflamación intensa , más daño a tejidos.**

#### 2. Apoptosis.

##### • Fisiológico y patológica.

• El núcleo se encoge y fragmenta, pero las membranas se mantienen (no ruptura, no salida de elementos) → **Eferocitosis.**

• **No inflamación intensa, no daño de tejidos.**

Sobre apoptosis se ha avanzado mucho:

- La apoptosis es muerte celular programada y delimitada:
  - Controlada genéticamente (“suicidio celular”).
  - Desencadenado por ciertas señales celulares y que avanzan en “cascadas”.
- Dos razones de la apoptosis:
  - Eliminación de células en exceso (fisiológica: ejemplo, formación de dedos en humanos al desaparecer membranas interdigitales).
  - Eliminación de células peligrosas (patológica: células infectadas con virus, micoplasma, cancerosas, etc.).

**Eferocitosis.** Es un término relativamente nuevo y con características de gran interés práctico.

- La eferocitosis es la “fagocitosis” de las células apoptóticas.
- Se realiza antes de que se destruyan las membranas y se viertan los contenidos (necrosis).
- Entonces, con la eferocitosis **se atenúa la inflamación** y se hace posible la **reparación de los tejidos**.
- Por ejemplo, el antibiótico Tylvalosina induce apoptosis de los neutrófilos y macrófagos porcinos y promueve la eferocitosis...
- Es decir, mediante esta ruta, la Tylvalosina evita la inflamación intensa y permanente, y así, la recuperación del pulmón es más rápida en la infección por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Neumonía Enzoótica Porcina).
- La eferocitosis de los neutrófilos (promovida por la Tylvalosina), desencadena cierto tipo de macrófago antiinflamatorio que:
  - a) **Reduce los mediadores PRO-inflamatorios**, como: IL-6, CXCL-8 (interleucina 8), IL1alfa y TNF- $\alpha$ .
  - b) **Promueve mediadores ANTI-inflamatorios** como: TGF- $\beta$ , LXA4 e IL-10.
- La Resolvina RvD<sub>1</sub> disminuye la acumulación de neutrófilos en el pulmón, reduce el edema e inhibe la producción local de mediadores proinflamatorios (muy importante en la auto-resolución de la neumonía bacteriana gramnegativa).
- Usando Tylvalosina y leucocitos porcinos como un sistema modelo, se demostró **que se promueve la apoptosis y eferocitosis de neutrófilos** y, se inhibe la producción de LTB<sub>4</sub> proinflamatoria mientras se induce la síntesis de Lipoxina LXA<sub>4</sub> y RvD<sub>1</sub> ; todo esto independientemente de las acciones antimicrobianas de la Tylvalosina.

## PROTEÍNAS DE LA FASE AGUDA DE LA INFLAMACIÓN.

### Importancia práctica.

Se ha propuesto que pueden usarse como marcadores tempranos de que existe inflamación en el animal para: 1) Detectar enfermedades subclínicas, 2) Evaluar la eficacia de antibióticos y vacunas (+/- inflamación), 3) Evaluar el nivel de bienestar animal (asociado a estrés), Etcétera. Su medición supera a la tradicional medición de niveles de leucocitos como indicadores de infección; sin embargo, después del “bump” de su aparición (más de 15 años), parece que ha no prosperado su uso.

### ¿Cuándo se producen?

Durante la fase temprana (aguda, inmediata) de la inflamación hay aumentos muy marcados en la concentración de ciertas proteínas plasmáticas. Dicha fase aguda se caracteriza por: 1) Ser muy rápida (antes de que se presenten signos clínicos en el animal), 2) Ser compleja, 3) Ser inespecífica (es una respuesta primaria general de la inflamación sin importar la causa); por tanto, **no es útil para diagnosticar enfermedades concretas**, 4) Depender de la especie, por ejemplo: en el cerdo es muy importante la CRP, pero en el gato no se eleva en la inflamación).

Las causas de inflamación, y por tanto, de producción de Proteínas de la Fase Aguda (PFA) pueden ser: Infecciosas, inmunológicas, neoplásicas, traumáticas. Son Producidas en hígado por estimulación de citocinas proinflamatorias. En cerdos las principales son: Haptoglobina, Proteína C Reactiva (CRP), Proteína de fase aguda principal del Cerdo (Pig-MAP). Como se apuntaba, se pretende darles uso práctico como biomarcadores tempranos, pero generales, de la infección y la inflamación, así como del estrés por transporte y vigilancia de rendimiento productivo.

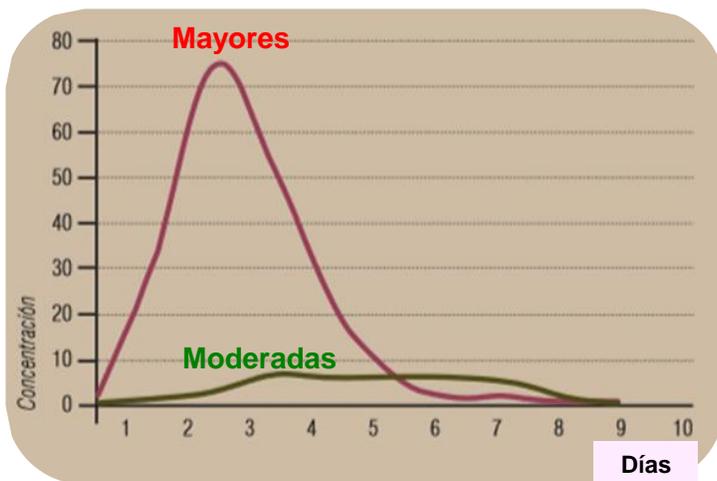
### Clasificación de las PFA.

Con base en el aumento o decremento de su concentración en la respuesta inflamatoria se clasifican como “Positivas” o “Negativas” respectivamente; pero además las PFA positivas, de acuerdo a la magnitud de su respuesta, se clasifican en “Moderadas” (2 a 10 veces más) y en Mayores (10 a 100 veces más). En el cuadro siguiente se anota esta la clasificación con ejemplos.

Por su respuesta en inflamación.	Magnitud de la respuesta.	Ejemplos de PFA
<b>POSITIVAS.</b> <u>Aumentan</u> su concentración.	<b>Moderadas.</b> 2 a 10 veces más	<b>Haptoglobinas (HP).</b> <b>Pig-MAP.</b> Glicoproteína Ácida Soluble (AGS). Ceruloplasmina. Fibrinógeno
	<b>Mayores.</b> 10 a 100 veces más	<b>Proteína C Reactiva (PCR).</b> Amiloide A Sérica (SAA).
<b>NEGATIVAS</b> <u>Bajan</u> su concentración	----	Albúmina. Apolipoproteína A1 (Apo-A1). Transferrina.

Cuadro construido a partir del texto en: Cerón J. et al SUIIS N° 127, mayo 2016 n 15

### Ejemplo comparativo de la respuesta de las PFA.



- Las PFA **mayores** se elevan mucho, lo hacen rápidamente, pero casi no permanecen y bajan su concentración muy rápido.
- Las PFA **moderadas** se elevan poco, tardan más en alcanzar su máximo, pero permanecen más tiempo altas y regresan en forma gradual.

Fuente: Cerón J. et al SUIIS N°127, mayo 2016 n 15

Ejemplos de casos reales, de campo y experimentales, de medición de PFA.

Casos de campo o experimentales donde se han medido a la vez PFA.					
Cla	ESTÍMULO INFLAMATORIO	Año	PFA estudiada	Tipo	Aumento
1	Inyección de Turpentina (Ex)	2007	SAA	Mayores	76
			CRP	Mayores	18
			Pig-MAP	Moderada	4
			Haptoglobina	Moderada	2
2	<i>Mycoplasma hyopneum. (campo)</i>	2006	CRP	Mayores	71
			SAA	Mayores	7
			Haptoglobina	Moderada	17
			Pig-MAP	Moderada	3
3	Actynobacillus pl. (Ex)	1998	CRP	Mayores	7
			Haptoglobina	Moderada	26
			Pig-MAP	Moderada	13
		2003	SAA	Mayores	800
			Haptoglobina	Moderada	8
4	PRRS (Ex)	2016	CRP	Mayores	3
			Haptoglobina	Moderada	2
			Pig-MAP	Moderada	No dif.
5	Virus influenza porcina + <i>P. Multocida.</i> (Ex)	2013	SAA	Mayores	40
			CRP	Mayores	8
			Haptoglobina	Moderada	4
			Pig-MAP	Moderada	4

Este resumen de varios trabajos de medición de las PFA sirve para ilustrar el aumento de las PFA Mayores y Moderadas.

Vemos que para cada enfermedad o desafío inflamatorio:

- 1) Se detectan incrementos muy evidentes.
- 2) Pero una misma PFA **varía considerablemente** entre enfermedades; por ejemplo: la **CRP**, clasificada como **PFA Mayor**, tuvo valores de **3, 7, 8, 18, 71**.

También es un caso similar la **Haptoglobina** (PFA **Moderada**): **2, 4, 8, 17, 26**.

Tal vez esta gran variación ha creado incertidumbre para las aplicaciones prácticas sugeridas para la PFA.

Adaptado de: Cerón J. et al SUIIS N°127, mayo 2016 n 15

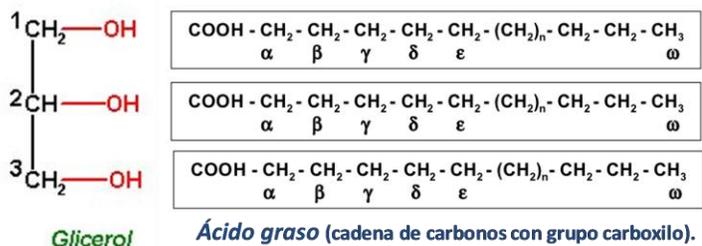
## ACIDOS GRASOS OMEGA 3 Y 6.

### Contexto.

Los "Omega 3 y 6" son muy populares porque constantemente se mencionan por televisión como atributo de ciertos ingredientes que benefician la salud humana y canina. Pareciera que son "todo poderosos", pues "todo lo resuelven": la "mayor" inteligencia de los bebés (y los cachorros), la fertilidad, el envejecimiento, los problemas cardiacos, problemas de piel (y pelo en perros), etcétera. En todo esto hay "verdades a medias..." o medias mentiras; es necesario entenderlos y acotarlos; porque tienen que ver mucho con la modulación de la inflamación y de la respuesta inmunológica.

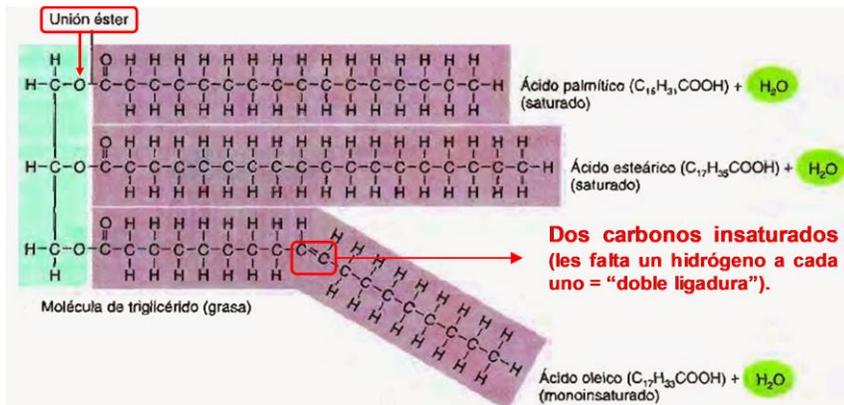
Es una verdad total que la nutrición juega un papel importante en la modulación del sistema inmunológico de los animales. La inmunomodulación se refiere, tanto a la supresión, como al aumento de la respuesta inmunológica. La supresión de la función del sistema inmunológico es importante en los casos de excesiva inflamación o enfermedad relacionada con inmunología. El aumento de la respuesta inmunológica es de ayuda cuando se necesita aumentar la resistencia a una enfermedad.

### ¿Qué son los Omega 3 y 6?



Son parte de los aceites y grasas simples. Una molécula de éstas está constituida por un triacilglicérido (mal llamado triglicérido); es decir, una molécula de glicerol (alcohol glicerina, 3 carbonos) + 3 moléculas de ácidos grasos. Los ácidos grasos varían según su número de carbonos y según el número de "dobles ligaduras" (insaturaciones que poseen).

### ¿Y qué son las "dobles ligaduras"?



Una insaturación o "doble ligadura" se presenta entre dos carbonos adyacentes cuando, a cada uno les falta un hidrógeno, es decir, cada uno tiene un electrón "desocupado" en la última "órbita". Esto los hace muy propensos para reaccionar con oxígeno (oxidación), pero también hace que se curve la molécula de ácido graso, así, cuando estos ácidos grasos forman parte de la membrana celular, le confieren flexibilidad a dichas membranas y así, pueden ejercer mejor sus funciones.

Las dobles ligaduras son necesarias para la fisiología celular, (no son "accidentes"), de hecho, por medio de enzimas desaturadas se insertan dobles ligaduras, ahora bien, la síntesis de dichas enzimas está dictada por el código genético de microorganismos, plantas, animales. Las dobles ligaduras se "insertan" en determinados carbonos para dar origen a los "famosos" omega 9, omega 6, omega 3, ac. araquidónico, EPA, DHA, etcétera.

En el cuadro de la derecha se muestra la composición de ácidos grasos de ciertos ingredientes para alimentación. Los aceites vegetales destacan por su alto contenido en ácidos grasos polinsaturados (18 carbonos y 2 y 3 insaturaciones o "dobles ligaduras"). El aceite de pescado de arenque contiene 46% de ácidos grasos insaturados de más de 20 carbonos, los peces marinos de agua fría consumen algas y éstas son fuentes de dichos ácidos grasos.

Grasa o aceite	Saturados	Monoinsaturados (oleico)	Polinsaturados Omega 6 y 3	Poli >20 C	Total
Manteca.	42%	41%	12%	1%	96%
Sebo.	52%	36%	4%	0%	92%
Aceite canola.	6%	56%	30%	4%	96%
Aceite soya.	14%	23%	58%	0%	95%
Aceite maíz.	13%	24%	60%	0%	97%
Aceite pescado arenque.	29%	12%	2%	46%	89%

### Importancia de los ácidos grasos esenciales.

- 1) El organismo no los sintetiza (carece de la enzima para insaturación necesaria y/ o elongación de la cadena de ácido graso, es decir aumento del número de carbonos en la cadena). Entonces, se tienen que ingerir en la dieta; pero hay que matizar: se necesitan en relativamente pocas cantidades y, una ingestión alta de estas moléculas no produce más ventajas; por ejemplo, los niños o cachorros no son más inteligentes, como proclaman ciertos productos en la televisión, el problema es que la deficiencia de dichos ácidos grasos, sí puede provocar problemas de desarrollo neuronal (todo un tema).
- 2) Son precursores de moléculas funcionales de muy diversa índole.
- 3) Son parte importante de las membranas celulares y de organelos celulares (los ácidos grasos insaturados se curvan y esto da flexibilidad a las membranas lo cual optimiza sus funciones: transporte, regulación metabólica, etc.); por cierto, el colesterol provoca rigidez de las membranas.
- 4) Como cualquier grasa, son fuente de energía, pero esto sería un desperdicio cuando hay otras prioridades.
- 5) Para el tema que se aborda en este documento hay que destacar que, son precursores de varios tipos de mensajeros químicos: **1) Trombohexanos, 2) Leucotrenios y 3) Prostaglandinas, 4) Proclinas**, y ya que estamos integrando la "modulación" de la inflamación, es necesario revisarlos; comenzaremos por su estructura química para comprender sus funciones. *Nota: también intervienen como inmunomoduladores, pero está fuera del objetivo de este escrito.*

### Nomenclatura.

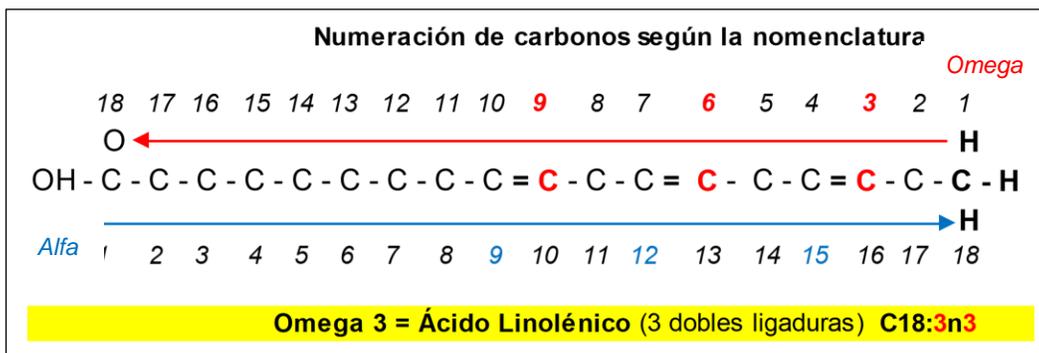
- Los ácidos grasos químicamente se nombran con base en:
  - 1) El **número de carbonos** (se cuentan todos los carbonos incluyendo el del grupo carboxilo COOH<sup>-</sup>, y el del grupo metilo terminal (CH<sub>3</sub>)).
  - 2) El **carbono alfa** es el del grupo carboxilo y el **carbono omega** es el del grupo metilo terminal. Hay dos nomenclaturas que difieren en el **orden en que numeran a todos los carbonos** del ácido graso (ver más adelante).
  - 3) El **número de dobles ligaduras** (insaturación = donde hace falta un hidrógeno = doblez que le da flexibilidad a la molécula de ácido graso).
- Hay **dos nomenclaturas** para designar donde están las dobles ligaduras (nomenclatura omega y nomenclatura delta). Ambas nomenclaturas indican el número de carbonos y el número de dobles ligaduras, pero la diferencia es en que número de carbonos se ubican las dobles ligaduras (porque el orden de conteo de los carbonos es diferente). Para los químicos, ambas nomenclaturas tienen sus ventajas y se usan las dos para explicar acción de enzimas y metabolismo.
  - 1) **Nomenclatura Omega.** El carbono 1 es el carbón omega (el del grupo metilo terminal), se nombra la posición de la primera doble ligadura a partir del carbono omega. Tomaremos como ejemplo el ácido graso de 18 carbonos (sin dobles ligaduras = saturado), llamado ácido esteárico. A partir de este:
    - a) **Ácido oleico.** La primera doble ligadura aparece en el carbono 9 y entonces, al ácido oleico también se le conoce como **omega 9**. No es esencial, así que pocas veces se menciona. De todos modos, se encuentra en la dieta (grasas y aceites).
    - b) **Ácido linoleico.** Además de la ligadura en el carbono 9 aparece otra en el carbono 6, entonces se nombra como **omega 6**. Sí es esencial. Entonces, el omega 6 tiene doble ligadura en el carbono 3 y en el 6.
    - c) **Ácido linolénico.** Además de las ligaduras en carbono 9 y 6, aparece una tercer doble ligadura en el carbono 3 y se conoce como **omega 3**. También es esencial. Entonces, el omega 3 tiene triple ligadura en el carbono 9, 6 y en el 3.

Ver esquema siguiente sobre ácidos grasos insaturados Omega 9, Omega 6 y Omega 3.



- 2) En la nomenclatura omega, primero se menciona el número de carbonos (C), después el total de dobles ligaduras y al final la posición de la doble ligadura más cercana al carbón omega (contando desde el carbono omega). Así, el ácido linoleico u omega 6 es: C18:2n:6 (sólo se menciona la ligadura del carbono 6 porque se sobreentiende que la primera doble ligadura está en el carbono 9).
- 3) **Nomenclatura Delta:** Se cuentan los carbonos a partir del carbono del grupo COOH<sup>-</sup>. Primero se da la posición de las dobles ligaduras, después el número de carbonos y después el total de dobles ligaduras (confuso). Así, el ácido linoleico u omega 6 es: Δ9,12.18:2 (recordar que el número de carbonos (9 y 12) es diferente porque están numerados en orden diferente).

### Comparativo de numeración de carbonos en nomenclatura Omega vs Delta.



Según el total de carbonos del ácido graso cambia el número de carbono de la nomenclatura Delta con respecto a la nomenclatura Alfa.

Por ejemplo, para el ácido Linolénico la ligadura del carbono 6 (Omega) equivale al carbono 13 (Delta), pero para una cadena de 20 carbonos, ese mismo carbono 6 (Omega), ahora es carbono 15 en Delta.

### Química y funcionalidad.

- En los mamíferos los **ácidos grasos esenciales son poliinsaturados**, con la doble ligadura en **configuración cis**. La doble ligadura en configuración trans no es compatible con la actividad de los ácidos grasos esenciales pues, cambia la configuración espacial (ver esquema abajo).
- Estrictamente, la nomenclatura omega sólo aplica para las dobles ligaduras cis.



En el esquema de la izquierda, dos moléculas de ácido linolénico con 18 carbonos, 2 dobles ligaduras. En nomenclatura Delta, la posición de la segunda doble ligadura es diferente; En “cis” está en los carbonos 12 y 13 y en “trans” está en los carbonos 11 y 12.; es decir, en ésta última, sólo hay un carbono saturado entre ambas ligaduras; en cambio en la “cis” son dos carbonos saturados entre ambas dobles ligaduras. Cambia el “doblez” de la molécula; y por tanto, cambia la funcionalidad.

### El papel de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI = PUFA) en la inflamación.

La explicación previa era importante para entender la constitución de los AGPI (PUFA en inglés = **Poly-Unsaturated Fatty Acids**).

#### ¿Por qué son esenciales los AGPI?

Todos los mamíferos tienen las rutas para síntesis *de novo* de ácidos grasos hasta el ácido palmítico (16 carbonos y ninguna doble ligadura), éste podría ser elongado hasta ácido esteárico (18:0) y convertido a ácido oleico (18:1) (*una doble ligadura = monoinsaturado*); pero ya no pueden ser insertadas más dobles ligaduras al ácido oleico.

Las plantas, a diferencia de los mamíferos, pueden insertar más dobles ligaduras en el ácido oleico (18:1) y producir el ácido Graso Poli-insaturado llamado: Ácido Linoleico (LA, 18:2n-6) y el ácido Alfa Linoleico (ALA, 18:3N-3). Tanto el Ac Linoleico como el Ac. Alfa Linoleico se consideran ácidos grasos esenciales porque los animales no pueden sintetizarlos; por tanto, deben ser aportados en la dieta.

Ahora bien, los Ácidos Grasos Poli-insaturados (AGPI), (2 o más dobles ligaduras), sirven como sustratos que pueden ser metabolizados para formar importantes compuestos con actividad biológica. Para producir dichos metabolitos ciertas células contienen un grupo de enzimas que desaturan, elongan (aumentan carbonos en la cadena) y oxigenan a las cadenas de ácidos grasos.

Ya hemos visto que, todos los AGPI se clasifican con base en la posición de su primera doble ligadura en la cadena contando a partir del carbono terminal (carbono omega). En el cuadro siguiente se presentan para entender cuáles producen los animales y cuales las plantas.

Ácido Graso	Carbonos	Dobles ligaduras	Saturación o insaturación	Clasificación Omega	Síntesis por
Palmítico	16	0	Saturado	---	Plantas y mamíferos
Esteárico	18	0	Saturado	---	Plantas y mamíferos
Oleico	18	1	Saturado	Omega 9	Plantas y mamíferos
Linoleico	18	2	Monoinsaturado	Omega 6	Sólo Plantas
Linolénico	18	3	Polinsaturado	Omega 3	Sólo Plantas
Araquidónico	20	4	Polinsaturado	---	Animales a partir de Omega 6 y 3

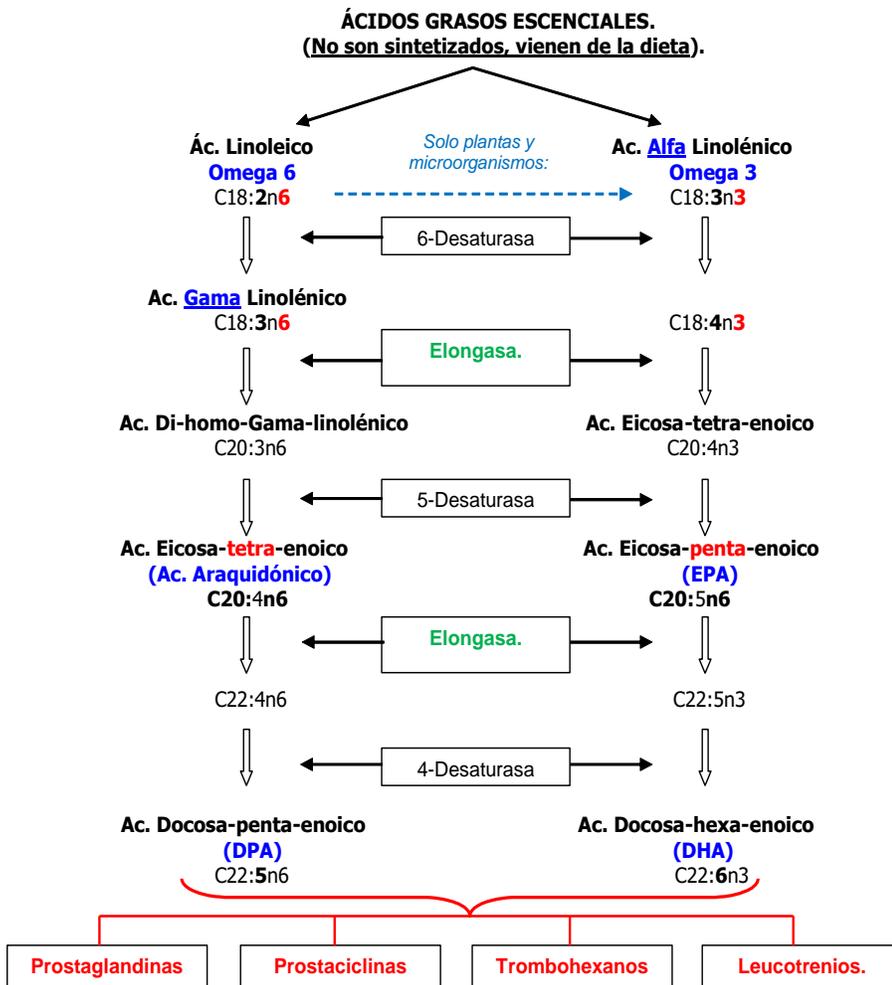
### Serie Omega 6 y Serie Omega 3.

Las dos series más importantes de AGPI son la **serie n-6** (la ligadura más cercana al carbón omega está localizada en el sexto carbón = Omega 6) y la **serie n-3** (la ligadura más cercana al carbón omega está localizada en el tercer carbón = Omega 3), ver nuevamente el esquema página 9.

En los animales, en la **serie n-6** (Omega 6), el **ácido linoleico**, que sólo se adquiere de la dieta, puede ser desaturado para producir **Ácido Gama Linolénico** (AGL = Gama Linolenic Acid = GLA, 18:3n-6, tiene 3 dobles ligaduras). A su vez, este es elongado a 20 carbonos y resulta en **dihomo-gama-Ácido Linolénico** (DGLA, 20:3n-6), a su vez éste es desaturado para producir el muy importante **Ácido Araquidónico** (AA,20;4n-6), ver esquema abajo.

En el esquema se ve que el Ácido Araquidónico todavía es elongado a 22;4n6 y luego desaturado nuevamente 22;5n6. Y es que el **Ácido Araquidónico es precursor de Prostaglandinas, Prostaciclina, Trombo Hexanos, y Leucotrienos** (depende de las enzimas presentes).

Por cierto, muchas plantas marinas, especialmente las **algas**, elongan cadenas y agregan dobles ligaduras (desaturar) al Ácido Alfa Linolénico (ALA) para producir AGPI Omega 3 con 20 y 22 átomos de carbonos y 5 o 6 dobles ligaduras. La formación de estas cadenas largas de AGPI omega 3 por las algas marinas y, su transferencia a través de la cadena alimenticia a los peces, aportan a la abundancia de **Ácido Eicosapentaenoico** (EPA,20:5n3) y **Ácido DocosaHexaenoico** (DHA, 22:6n-3) en **ciertos aceites de pescado marino**.



Como se aprecia en el esquema, son dos series de ácidos grasos:

- 1) Los derivados del Ác. Linoleico (Omega 6, 18 carbonos y 2 dobles ligaduras).
- 2) Los derivados del A. Linolénico (Omega 3, 18 carbonos y 3 dobles ligaduras).

La serie del Omega 6 produce el Ácido Araquidónico (20 carbonos y 4 dobles ligaduras); mientras que la serie del Omega 3 produce el Ác. Eicosapentaenoico (EPA, 20 carbonos y 5 dobles ligaduras).

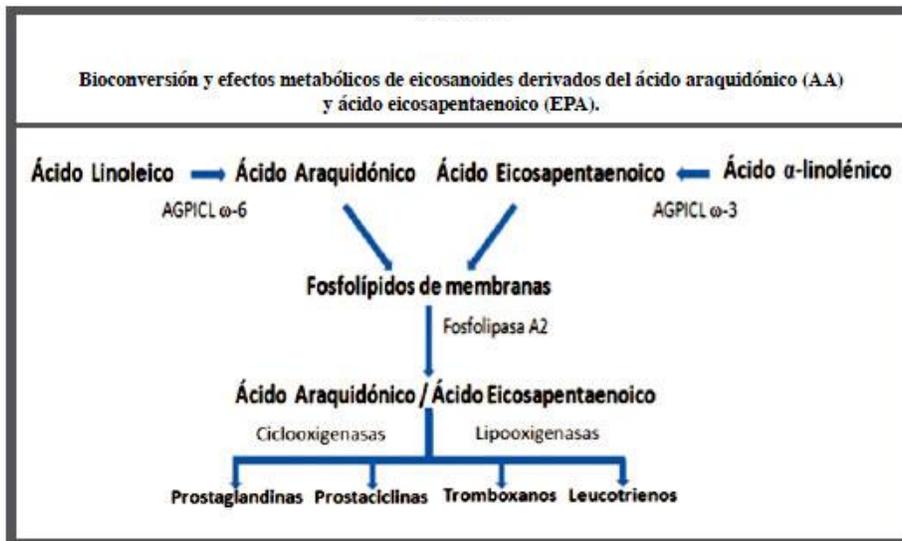
Pero en ambas series todavía continúa la elongación hasta 22 carbonos y una desaturación más (DPA y DHA).

Nota:

No confundir el Ácido **Alfa** Linolénico con el Ácido **Gama** Linolénico. Ambos son de 18 carbonos y tienen 3 dobles ligaduras. Pero el primero es de la serie Omega 3 (ligaduras dobles en carbonos 9,6,3) y el segundo es de la serie Omega 6 (ligaduras dobles en carbonos 12,9,6).

Los ácidos grasos poliinsaturados luego de ser ingeridos, se incorporan rápidamente a los fosfolípidos de las membranas celulares desde donde pueden ser liberados por fosfolipasa A2 y después metabolizados por enzimas **lipooxigenasas y ciclooxigenasas**, originando productos con potentes propiedades citoprotectoras y especialmente antiinflamatorias.

El Ácido Araquidónico (AA), el Ácido Gama Linolénico y el Ácido Eicosa Pentaenoico (EPA) son **precursores de la síntesis de Eicosanoides**, un importante grupo de **moléculas inmuno-reguladoras que funcionan como hormonas locales y mediadores de la inflamación**.



El Ácido Araquidónico (AA) tiene dos vías distintas de acción:

- 1) La primera vía involucra a las **ciclooxigenasas**, las que convierten al AA en el **tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>)** y en varias **prostaglandinas**. Entre las prostaglandinas derivadas del AA, la prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), es un **potente “mediador” de la inflamación, el dolor, la fiebre y del aumento de la permeabilidad vascular**.
- 2) La segunda vía del AA involucra la enzima **5-lipoxigenasa** y la formación de distintos **leucotrienos**, entre los que destacan el leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), el leucotrieno C<sub>4</sub> y el leucotrieno D<sub>4</sub>, los cuales son **potentes agentes pro-inflamatorios que aumentan la permeabilidad vascular, la actividad de las células inmunes, y estimulan la liberación de citoquinas inflamatorias**.

Cambiando el tipo de ácidos grasos disponibles a las células del sistema inmunológico (linfocitos y monocitos), se modifica la composición de ácidos grasos de su membrana y, se observa un cambio en la función de la célula.

La síntesis de Eicosanoides comienza con el metabolismo del Ácido-Gama-Linolénico (GLA), EPA o Ac. Araquidónico, con uno de los dos sistemas enzimáticos:

1. **Ciclo-oxigenasa** la cual rinde Prostaglandinas y Tromboxanos.
2. Las 5-, 12-, o 15-**Lipoxigenasas** las cuales rinden Leucotrienos, Lipoxinas, HPETE y HETE).

Las cantidades y tipos de Eicosanoides sintetizados son determinados por la **disponibilidad de ácidos grasos precursores liberados desde la membrana**, y por las actividades de las ciclo-oxigenasas y la lipo-oxigenasas.

En la mayoría de las condiciones, el principal precursor de estos compuestos es el Ac. Araquidónico; sin embargo, **el Ácido Gama Linolénico (GLA) y EPA compiten con el Ac. Araquidónico por los mismos sistemas de enzimas**. Los Eicosanoides derivados del Ac. Araquidónico parecen ser más comunes en circunstancias de fisiología normal. Estos hallazgos están explicados por el mayor contenido de Ac. Araquidónico que GLA o EPA en la mayoría de membranas de fosfolípidos, y una especificidad más baja de ciclooxigenasa para GLA y EPA que para Ac. Araquidónico.

**Los eicosanoides producidos a partir de Ac. Araquidónico son pro-inflamatorios si se comparan con los eicosanoides formados de GLA o EPA y pueden derivar en condiciones patológicas cuando se producen en cantidades excesivas.**

	Abreviatura de ácido graso	Nombre	Notación Omega
1	<b>AA</b>	Arachidonic acid	<b>20:4n-6</b>
2	<b>EPA</b>	Eicosapentaenoic acid	<b>20:5n-3</b>
3	<b>DPA</b>	Docosapentaenoic acid	<b>22:5n-3</b>
4	<b>DHA</b>	Docosahexaenoic acid	<b>22:6n-3</b>

En los humanos y en animales las dietas ricas en EPA y DHA aumentan la proporción de estos ácidos grasos en las membranas celulares, particularmente en los linfocitos lo cual, además de reducir el contenido de AA en las membranas de estas células, por un efecto de competencia, **disminuye** la generación de los **productos pro-inflamatorios derivados del AGPICL  $\omega$ -6**.

**Efectos metabólicos de los tromboxanos, prostaciclina y leucotrienos derivados del ácido araquidónico (AA) y ácido eicosapentaenoico (EPA).**

PLAQUETAS		CÉLULAS ENDOTELIALES		LEUCOCITOS	
AA	EPA	AA	EPA	AA	EPA
<b>Via ciclooxigenasas</b>		<b>Via ciclooxigenasas</b>		<b>Via lipooxigenasas</b>	
Tromboxano A <sub>2</sub>	Tromboxano A <sub>3</sub>	Postaciclina I <sub>2</sub>	Prostaciclina I <sub>3</sub>	Leucotrieno B <sub>2</sub>	Leucotrieno B <sub>5</sub>
Agregación Plaquetaria	Biológicamente inactivo	Vasodilatador	Vasodilatador	Proinflamatorio	Antiinflamatorio
Vasoconstrictor		Antiagregación Plaquetaria	Antiagregación Plaquetaria	Quimiotáxico	No quimiotáxico
				Adhesión celular	Inhibe adhesión celular

La suplementación dietaria con EPA y DHA también es capaz de reducir la producción de citoquinas pro-inflamatorias, tales como la interleuquina-1, la interleuquina-6, la interleuquina-8 y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), que se liberan cuando los macrófagos y monocitos son activados. Si bien estas citoquinas son potentes activadores de la función inmune, el exceso de actividad de estas sustancias contribuye a la inflamación patológica, situación observada en la inflamación intestinal crónica, en la artritis reumatoidea, entre otras patologías inflamatorias.

**Los Ácidos grasos y la modulación de la respuesta inmunológica y de la inflamación.**

Los **macrófagos son la fuente más importante de eicosanoides** (Prostaglandinas, Tromboxanos, Leucotrienos y HETE), ya que ellos **poseen tanto la enzima ciclooxigenasa como la lipooxigenasa**, y son sujetos de la regulación de ambas enzimas. Entonces, **los macrófagos modulan la intensidad y duración de la respuesta inflamatoria e inmunológica**. La alteración de la producción de eicosanoides del macrófago modula la respuesta inmunológica.

**El Ácido Araquidónico es el principal Ácido Graso Poli-insaturado en la membrana de fosfolípidos de los macrófagos y linfocitos.** La respuesta del tejido que es irritado o dañado es la inflamación, un mecanismo por el cual el tejido se protege inmunológicamente a sí mismo. En breve, las fosfolipasas actúan en la membrana fosfolipídica de la célula para liberar ácidos grasos.

El ácido Araquidónico, el ácido graso que se encuentra en mayor concentración es liberado y convertido en ecosanoides, los cuales regulan la inflamación.

Cuatro leucotrienos derivados del Ac. Araquidónico y una prostaglandina juegan un papel central en el proceso de la inflamación. LTB4 estimula la quimiotaxis de neutrófilos y eosinófilos e incrementan la permeabilidad muscular.

La LTC4, LTD4 y LTE4 refuerzan la contracción del músculo liso e incrementan la permeabilidad muscular. La PGE2 inhibe la proliferación de Linfocitos T y B, reduce la producción de citocina y limita la actividad de células Naturales Asesinas (NK). El aumento de la producción de LT y PGE2 ha sido reportada en muchas enfermedades inflamatorias crónicas.

El consumo de aceite de pescado con Ácidos Grasos Polinsaturados omega 3 o aceites altos en ácido graso omega 6 (GLA) por ejemplo aceite de primrose, aceite borage o aceite negro currant, resultan en el reemplazo de Ac. Araquidónico en la membrana de los macrófagos con EPA o DGLA. El resultado es la producción de menos eicosanoides derivados de Ac. Araquidónico y más eicosanoides derivados de EPA o GLA; por tanto, se reduce la respuesta inmunológica a un episodio inflamatorio.

Consecuentemente, cambiando el tipo de producción de eicosanoides y la subsecuente alteración en la producción de citocina puede reducir la inflamación por efectos mediados por eicosanoides.

Esta premisa es la base para el uso de EPA o GLA para el tratamiento de condiciones de inflamación crónica.

### **Rutas oxidativas del araquidónico**

Las dos principales rutas oxidativas enzimáticas del araquidónico son:

1. Vía de la lipoxigenasa (LOX), cuyos productos principales son leucotrienos, HETE y lipoxinas.
2. Vía de la ciclooxigenasa (COX), cuyos productos principales son prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos.

Estas dos enzimas no actúan sobre los ésteres de araquidónico, por lo que primero debe liberarse el ácido graso libre desde los fosfolípidos de membrana, lo cual tiene lugar gracias a fosfolipasas.

En el proceso inflamatorio las prostaglandinas vasodilatan y potencian el edema al incrementar la permeabilidad vascular. El tromboxano y los leucotrienos C4, D4 y E4 favorecen la vasoconstricción. Los leucotrienos C4, D4 y E4 incrementan la permeabilidad vascular.

### **Conclusiones Ácidos Grasos Poliinsaturados.**

Los AGPICL  $\omega$ -3 de origen marino, como el EPA y el DHA, han demostrado ser eficaces en el tratamiento y prevención de variadas enfermedades, tales como cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoidea e injuria por isquemia/reperfusión. Estos ácidos grasos participarían directamente en la modulación de la respuesta inmune, disminuyendo la inflamación y el daño anatómico-funcional generado por esta, demostrándose el efecto antiinflamatorio y citoprotector de los AGPICL  $\omega$ -3. En este sentido las investigaciones futuras deberán centrar sus esfuerzos en establecer las dosis necesarias de estos ácidos grasos para lograr los efectos saludables descritos en esta revisión.

A nivel alimentario-nutricional las estrategias deberán orientarse a aumentar el consumo de los AG-PICL  $\omega$ -3 en la población, especialmente si se considera que la dieta occidental es pobre en ellos, para lo cual se deberá fomentar el consumo de alimentos ricos EPA y DHA, principalmente pescados grasos, o desarrollar alimentos funcionales que los contengan en concentraciones terapéuticamente útiles, además de considerar el consumo complementario de suplementos nutricionales (nutracéuticos) con AGPICL  $\omega$ -3.

# ESTRÉS OXIDATIVO.

## A) Qué no es.

No confundir con STRESS fisiológico, mecanismo de defensa contra los factores estresantes. No confundir con oxidación de grasas del alimento, tienen elementos comunes pero, el Estrés Oxidativo es un proceso en el organismo.

## B) Qué sí es.

En el organismo hay sustancias oxidantes y antioxidantes que aparecen, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas pero, bajo un equilibrio oxidante-antioxidante. Pues bien, el “Estrés Oxidativo” (EO), es el desequilibrio entre moléculas oxidantes y moléculas antioxidantes en favor de los oxidantes.

Dicho desequilibrio sucede cuando:

- Hay exceso de producción de oxidantes y entonces, el sistema antioxidante es rebasado (no lo puede amortiguar).
- Hay una reducción en el aporte de oxidantes (tampoco pueden ser amortiguados éstos).

Es importante enfatizar que, **hasta ciertos niveles, los oxidantes son benéficos para el organismo** (se verá más adelante), pero en exceso, son gravemente dañinos, de ahí la gran importancia de mantener un equilibrio entre ambos.

## Breve historia relevante.

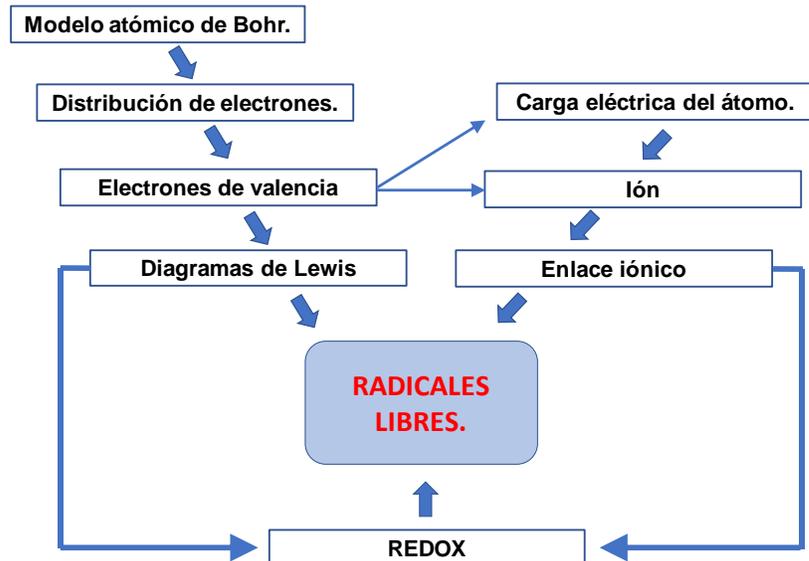
	AÑO	AVANCE.
1	1954	Se publica un artículo científico sobre el “envenenamiento por oxígeno” (Rebeca Gerschman <i>et al</i> ).
3	1956	Se publica la teoría de los radicales libre y el envejecimiento (Harrman D.).
4	1969	Se descubre la enzima Super Óxido Dismutasa (SOD) (McCord and Fridovich), que funciona como antioxidante.
5	1987-2017	La mayoría de la literatura científica se ha publicado en los últimos 30 años.
6	1997-2007	Una parte importante de la investigación en “estrés oxidativo” se ha realizado en caballos, en particular en fisiología del ejercicio pues, ésta especie es sometida a ejercicio intenso y a veces extremo.

## Tema complejo.

La comprensión cabal del Estrés Oxidativo (EO) demanda entender muy bien el tema de las Especies de Oxígeno Reactivas (ROS) y el de Radicales Libres (RL); sin embargo, esto a su vez hace necesario conocer ciertos temas de química que también son complejos. A continuación, un esquema que hace referencia a los temas para comprender el origen e importancia de las ROS y de los RL. En esta conferencia se abordarán solamente los puntos críticos.

Esquema de los temas que se deben comprender para entender el origen e importancia de los Radicales Libres (RL).

Los RL participan en reacciones de Óxido-Reducción, también conocidas como REDOX y, está claro que el ESTRÉS OXIDATIVO involucra oxidación así que, recordemos los puntos importantes de este tema.



## OXIDACIÓN.

Culturalmente sabemos que los metales a la intemperie, por ejemplo: clavos, una reja sin pintar, etc., se corroen y decimos, “se oxidaron los clavos”, esto hace referencia al oxígeno del aire; pues bien, lo que sucede a nivel químico es que la molécula del oxígeno del aire (O<sub>2</sub>) es una molécula oxidante, es decir, que roba electrones a la molécula de hierro (componente en los clavos). El oxígeno del aire necesita estabilizarse y por eso roba electrones; una molécula se oxida (“roba” electrones) y la otra se reduce (le son “robados”).

En el cuadro de la derecha, un resumen de los términos usados en el contexto de los Radicales Libres y las grasas, tema concreto del Estrés Oxidativo.

RADICALES LIBRES.		ÁCIDO GRASO.	
1	Gana ("roba") electrón.	1	Pierde electrón.
2	Se reduce.	2	Se oxida.
3	Es agente oxidante porque provoca que otro compuesto se oxide (pierda).	3	Es agente reductor porque provoca que otro compuesto se reduzca (gane).

## Especies de Oxígeno Reactivas (ROS).

Entender que el Estrés Oxidativo involucra la oxidación de ciertas moléculas (ácidos grasos principalmente), es un avance, pero todavía es un conocimiento muy superficial, hay que profundizar más.

El oxígeno del aire es una molécula “perezosa” pues, le lleva semanas oxidar al hierro; sin embargo, existen variantes del oxígeno (especies), que para estabilizarse, son hiper activas en el “robo” de electrones, se producen en el organismo en forma normal, oxidan a las grasas en milisegundos y lo peor, lo hacen en reacciones en cadena que acaban destruyendo a las moléculas; por ejemplo las grasas de la membrana celular... pero también destruyen a las membranas de las bacterias invasoras; por eso **pueden ser dañinas o benéficas**, todo depende del equilibrio, es decir que sean contrarrestadas, cuando están en exceso por moléculas antioxidantes.

**Aclaración sobre nomenclatura de los ROS.** Viene del inglés “Reactive Oxygen Species”, la traducción correcta al español es **Especies de Oxígeno Reactivas** (especies se refiere a familias del oxígeno). También es válido decir “Especies Reactivas de(l) Oxígeno”; pero es un **error** decir “Especies Reactivas al Oxígeno”, es frecuente y, lamentable porque denota que no se entiende el tema; no se trata de moléculas que son reactivas al oxígeno, sino, de familias de oxígeno que son reactivas (hiperreactivas para ser más claros).

**¿Por qué familias (especies) de oxígeno?** El oxígeno tiene variantes en su configuración de electrones de la última órbita (electrones de valencia, o sea, los que se pueden combinar con otro elemento), y por eso se habla de la “familia” del oxígeno (diferentes tipos o especies de oxígeno). Estas especies derivadas del oxígeno (O<sub>2</sub>) son digamos, “hiperreactivas” en el robo de electrones.

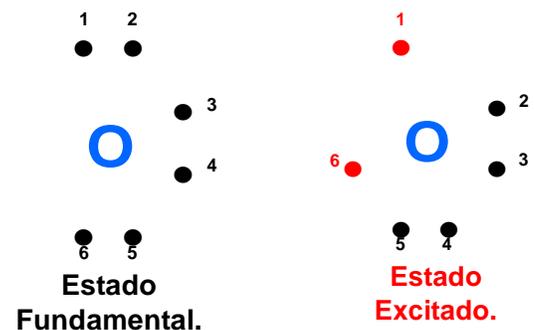
Los diagramas de la derecha, “Diagrama de puntos de Lewis”, representan el núcleo del oxígeno (O) y sus electrones de la última órbita (los que intervienen en las reacciones químicas).

En el **estado fundamental**, lo electrones están en pares (3 pares), esto es muy importante como veremos.

En el **estado excitado** hay dos electrones que no forman un par, entonces, aunque esta molécula es de oxígeno, resulta ser una **variante** del mismo. Entonces, debido a diferentes distribuciones de electrones de la última orbita, hay diferentes variantes o especies del oxígeno.

Entre las variantes de oxígeno están, por nombrar algunos, el **oxígeno singlete** (2 átomos de oxígeno excitados), **oxígeno triplete** (un átomo de oxígeno excitado y el otro en estado excitado, este no es parte de nuestro tema de estudio).

Por cierto, el ozono es una molécula con 3 oxígenos; es “otra cosa” y no tiene que ver con las especies de oxígeno (disposición de los electrones de la última capa).



Oxígeno singlete.

En rojo, dos electrones que no forman par, esto hace que la molécula sea muy inestable e hiperreactiva.

### ¿Y qué con los electrones desapareados?

Como ya se dijo, los electrones desapareados provocan que la molécula sea muy inestable y, para lograr estabilidad se “roba” electrones de otra molécula (se reduce, es decir actúa como agente oxidante).

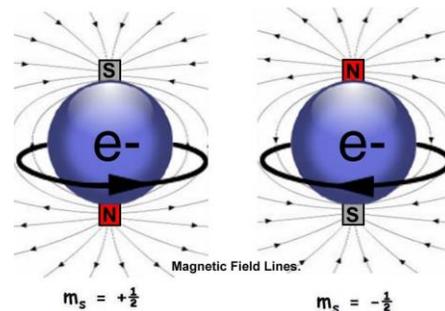
### ¿Y por qué los electrones desapareados producen inestabilidad de la molécula a la que pertenecen?

Se sabe que los electrones tienen rotación (**spín**) y esto genera un campo magnético (como un pequeño imán). Ver esquema a la derecha.

Pero, el emparejamiento de electrones con giros opuestos neutraliza la formación de campos magnéticos.

De hecho, la mayoría de sustancias no están influenciadas por campos magnéticos (porque sus electrones de la última orbita están en parejas de giro opuesto y se neutraliza su campo magnético).

Pero, ciertas especies de oxígeno, y sus radicales, tienen electrones desapareados y su espín genera un campo magnético que no es contrarrestado, esto hace inestable a la molécula y, le resulta “fácil” atraer y captar un electrón (“robo”), en ese momento se estabiliza, pero deja desestabilizada a la molécula oxidada (la robada).



Entendiendo lo anterior ya podemos introducir otro concepto, los Radicales Libres (RL).

### ¿Qué moléculas se incluyen en las ROS (Especies de Oxígeno Reactivas)?

Con relación a la presencia o no de ROS se clasifican en Radicales Libres y No Radicales.

<b>A) Radicales “libres”.</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>1) Anión Súper Óxido.</li><li>2) Radical Hidroxilo.</li><li>3) Óxido Nítrico*.</li></ul>	Los Radicales libres son moléculas, o fragmentos de moléculas que contienen uno o más electrones desapareados, lo cual incrementa mucho su reactividad.
<b>B) No Radicales.</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>1) Peróxido de hidrógeno.</li><li>2) Ácido hipocloroso.</li><li>3) Peroxi nitrito.</li></ul>	Los No Radicales son moléculas que no tienen electrones desapareados pero, son <b>precursores</b> de los Radicales Libres.

*Nota: El Óxido Nítrico pertenece a los RNS (Especies de Nitrógeno Reactivas), es otra familia o especie diferente a la del oxígeno, pero algunos autores las clasifican dentro de los ROS, no desde el punto de vista químico sino, como participantes en el Estrés Oxidativo. Son moléculas con efecto oxidante (“roban electrones”), pero se derivan del Óxido Nítrico (NO<sup>•</sup>); y por tanto, se usa el término “Estrés Nitrosativo” (Nitrosative Stress). Un ejemplo es el Peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>) son de uso reciente (2007).*

### Entonces ¿Qué son los Radicales Libres (RL)?

1. Contienen ROS (Especies de Oxígeno reactivas).
2. Son átomos, moléculas o fragmentos de moléculas,
3. Que tienen un electrón desapareado, pero que potencialmente se puede aparear (formar par).
4. Por tanto, son muy reactivos (“buscan” estabilizarse), la causa es el campo magnético generado por el spin no neutralizado de esos electrones.
5. Para estabilizarse, la molécula roba un electrón de las moléculas estables (pero susceptibles), se da una reacción de óxido-reducción.
6. Al “robar”, el radical libre logra estabilizarse, pero deja desestabilizada a la molécula blanco (la que se oxida), y se inicia una reacción en cadena que fragmenta a las moléculas oxidadas, esto afecta a la fisiología.
7. Los radicales libres se forman en el intermedio de reacciones químicas, su vida es muy corta (milisegundos), pero eso basta para “robar” electrones.
8. Se pueden formar en la atmósfera por radiación, y también en los organismos.

### Nomenclatura.

A la derecha del símbolo del átomo (o molécula), se escribe un **punto intermedio** que indica un electrón desapareado.

<b>H<sup>•</sup></b>	<b>Cl<sup>•</sup></b>	<b>CH<sub>3</sub><sup>•</sup></b>	<b>NO<sub>3</sub><sup>•</sup></b>	<b>•OH</b>
Radical Hidrógeno.	R. Cloro	R. Metilo	R. Nitrato	R. Hidroxilo

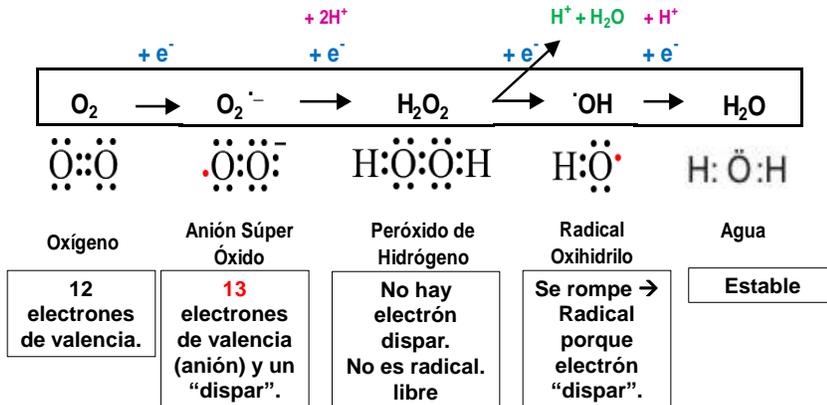
En cuanto a su carga, los radicales pueden ser: neutros, negativos (aniones), positivos (cationes). Por ejemplo, hay un radical que se llama: **anión superóxido**. Es anión porque tiene un electrón más y, es radical libre porque tiene un electrón desapareado.

## ¿Cómo se forman los radicales libres?

1. Adición o pérdida de un electrón de la última capa de la molécula:  $A \pm e^- = A^\cdot$
2. Ruptura de una molécula estable, formada por dos fragmentos en forma equilibrada:  $A-B = A^\cdot + B^\cdot$
3. En organismos aeróbicos la oxidación de sustratos energéticos (carbohidratos, grasas), así como diferentes reacciones enzimáticas implican la formación endógena y continua de RL.

## Generación de los ROS.

- El oxígeno puede sufrir cuatro sucesivas reducciones con un electrón (gana 1 electrón).

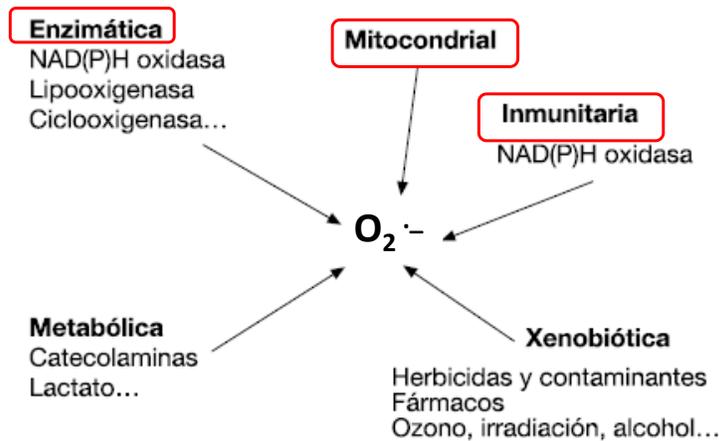


• A este proceso en el que la molécula de oxígeno puede ser reducida por cuatro transferencias sucesivas de un electrón se le denomina: "**Reducción univalente del oxígeno**".

• Dos de los intermediarios, el **Anión Súper Óxido ( $O_2^{\cdot-}$ )**, y el **Radical Oxihidrido ( $\cdot OH$ )**, son **verdaderamente radicales libres** (molécula con un electrón desapareado en el orbital externo = número impar de electrones  $\rightarrow$  reactividad alta debido a la fuerte tendencia a adquirir un segundo electrón en el orbital).

• Los radicales libres inician reacciones en cadena.

No hay que perder de vista que la formación de un radical libre, por ejemplo, el Anión súper Óxido  $O_2^{\cdot-}$  puede ser resultado de diversos fenómenos (esquema siguiente).



## Ejercicio y ROS.

El ejercicio es un factor general que promueve la formación de ROS durante todos estos eventos químico-fisiológicos: 1) El metabolismo del oxígeno en mitocondria, 2) La isquemia-reperfusión, 3) La oxidación de hemoglobina y mioglobina, 4) El metabolismo del Lactato, 5) La inflamación, 6) A partir de catecolaminas (adrenalina en estrés fisiológico).

Otros factores asociados al ejercicio son: 1) Condiciones ambientales (frío, calor, contaminación), 2) Hidratación temperatura central, 3) Situación postprandial ¿ingesta inmediata al ejercicio?, 4) Ingesta dietética pobre en antioxidantes.

## Todas las familias de Radicales Libres.

Clasificación y abreviatura de los radicales libres

Clasificación	Radical libre	Abreviatura
Especies reactivas del oxígeno	Oxígeno singulete	$^1\text{O}_2$
	Ión superóxido	$\text{O}_2^-$
	Radical hidroxilo	$\text{OH}^\bullet$
	Peróxido de hidrógeno	$\text{H}_2\text{O}_2$
	Radicales alcoxi y peroxi	$\text{RO}^\bullet$ y $\text{ROO}^\bullet$
	Radical hidroperoxilo	$\text{ROOH}^\bullet$
Especies reactivas del nitrógeno	Óxido nítrico	$\text{NO}^\bullet$
	Dióxido nítrico	$\text{NO}_2^\bullet$
	Peroxinitrito	$\text{ONOO}^\bullet$
Especies radicales del azufre	Radical tiilo	$\text{RS}^\bullet$
Especies reactivas del cloro	Ácido hipocloroso	$\text{HOCl}$

### El oxígeno vital y lesivo.

- Para los organismos aerobios el oxígeno es vital, pero es inherentemente lesivo.
- Y es que el "estrés oxidativo" (desequilibrio oxidante) es inevitable en un medio rico en oxígeno.
- Existen oxidantes exógenos (a los que estamos expuestos los organismos aerobios) y oxidantes endógenos que nosotros y los animales producimos en nuestro organismo.

### Oxidantes exógenos.

Radiación Ultravioleta y Radiación ionizante; contaminación, tabaquismo (el cigarro contiene oxidantes), inhalación de: 1) Ozono ( $\text{O}_3$ ), 2) Partículas ultra finas, 3) Endotoxinas.

### Oxidantes endógenos.

- Se producen normalmente y son útiles (mientras sean amortiguados).
- Proviene de:
  1. Respiración celular en mitocondria.
  2. Enzimas en el proceso de inflamación.
  3. Fagocitosis.

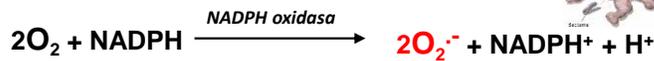
Veamos con más detalle cómo y cuándo se forman los oxidantes endógenos:

- **En la mitocondria en:**
  - 1) La cadena de transferencia de electrones y...
  - 2) En la fosforilación oxidativa del  $\text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$ .
    - a. 1 a 3% del oxígeno que es reducido en agua (paso final de respiración), puede formar **Anión Superóxido ( $\text{O}_2^-$ )**.
    - b. Nota: durante el ejercicio, el consumo de oxígeno aumenta en el hombre hasta 24 veces, y en el caballo hasta 40  $\rightarrow$  Más Anión Superóxido.
- **En la inflamación.**
  - a. Enzimas como: Xantina oxidasa, Oxidasas de membrana y Ácido nítrico sintetasas; producen oxidantes en forma fisiológica.
- **En la fagocitosis.**
  - a. La enzima NADPH-oxidasa, durante la combustión respiratoria de las células inflamatorias, genera **Anión Superóxido ( $\text{O}_2^-$ )**.
  - b. Producción y liberación de oxidantes por los neutrófilos y macrófagos para inactivar y destruir microorganismos a través de la peroxidación y desestabilización de sus membranas lipídicas.

**Aclaración entre dos moléculas que se parecen:**

**...generación de ROS.**

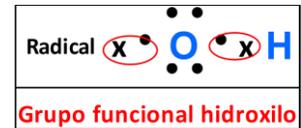
- El **Anión Súper Óxido también** se puede producir por:
  1. Reacción del oxígeno con catecolaminas (**estrés agudo**).
  2. **Fagocitos**, por ejemplo:



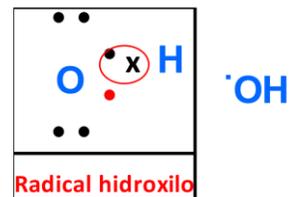
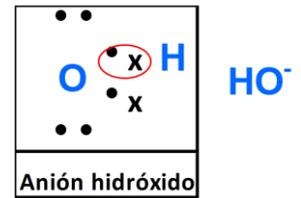
- El **peróxido de hidrógeno también** puede generar **Radical Oxihidrido** por la reacción de Fenton (Hierro como catalizador).



El ion  $OH^-$  es inofensivo pero el radical  $OH^{\cdot}$  Ataca moléculas estables como fosfolípidos de membrana, colesterol y proteínas.



Grupo funcional hidroxilo



**Moléculas pro-oxidantes.**

Además, hay moléculas “pro-oxidantes” que transforman a los oxidantes en formas aún más reactivas.

- Hierro, favorece la transformación del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ).
- Mieloperoxidasa (MPO) enzima que transforma el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en **ácido hipocloroso (HClO)**, éste:
  - Funciona como **molécula antimicrobiana no antibiótica**.
  - **Sintetizada por neutrófilos y macrófagos** durante el "estallido respiratorio" en la fagocitosis.
  - También es una sustancia **quimiotáctica** que permite un excelente control microbiano y activación del sistema de defensa lo cual facilita la rápida e inocua reparación de tejidos.

Por otro lado, hay **Oxidantes con función de SEÑALIZACIÓN REDOX.**

- Implica la activación de factores de transcripción RNA-ADN en procesos de mitosis y **apoptosis**.
- La expresión de **genes de la inflamación** es dependiente de las reacciones de óxido-reducción, las cuales confieren a los **oxidantes** el papel de **estímulo pro-inflamatorio**.

**Efectos negativos de los oxidantes.**

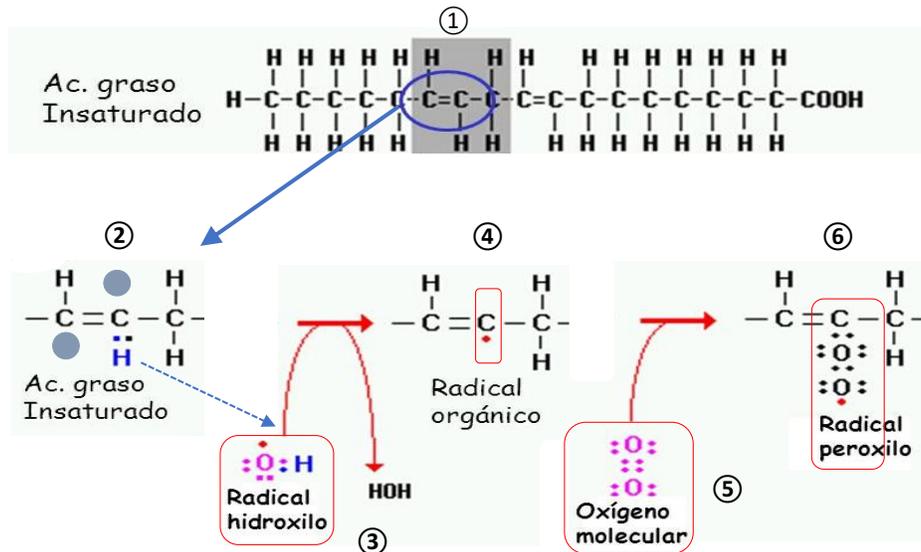
- Hay efectos negativos cuando se rompe el equilibrio (exceso de oxidantes y/ o falta de antioxidantes) → oxidación de moléculas:
  1. **ADN**. Mutaciones o rompimiento de la cadena.
  2. **Proteínas**. Malfuncionamiento de las enzimas.
  3. **Peroxidación lipídica**. Daño en membrana celular → rompimiento → pérdida de función e integridad de la célula.
- EL ADN, proteínas y lípidos que han sufrido oxidación pueden ser detectados y usadas como marcadores de oxidación.
- Entonces, a mayor cantidad de oxidantes, mayor inflamación (retroalimentación positiva) y por tanto, **los antioxidantes tienen función anti-inflamatoria (modulan)**.

**Antioxidantes en el organismo** (“los defensores”).

- No estamos hablando de antioxidantes en los ingredientes (sebo, aceite, harina de carne, h. pescado) ni de alimentos balanceados; sin embargo, algunos antioxidantes funcionan como exógenos y endógenos, pero hay que analizar su eficiencia, nivel de inclusión y la rentabilidad de su uso.
- Nos referimos a los que están incluidos en los sistemas de defensa contra los oxidantes e implican sistemas que:
  - Previenen la generación de ROS.
  - Inactivan a las ROS.
  - Reparar el daño oxidativo (limitan los efectos nocivos de los antioxidantes).

## Oxidación, Desequilibrio y Equilibrio de Oxidantes.

Para integrar todo lo que se ha explicado sobre Estrés oxidativo se explicarán dos ejemplos: 1) Las reacciones de peroxidación de grasas y 2) El equilibrio oxidante-antioxidante.



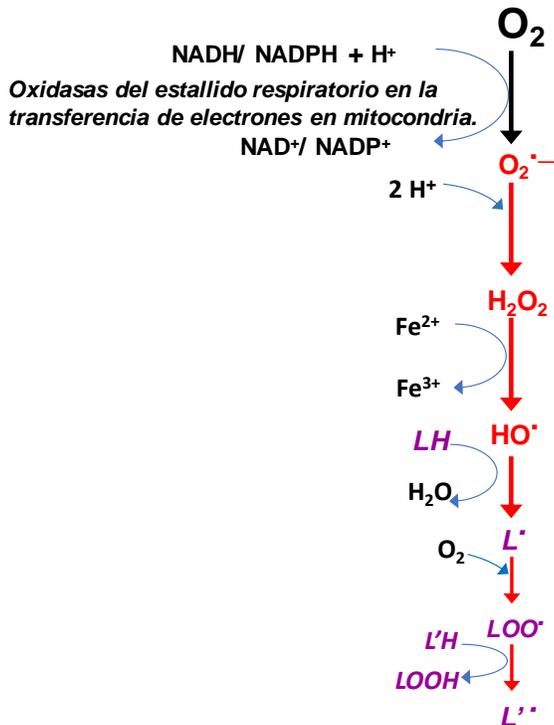
- 1) Se muestra un ácido graso de 18 carbonos poli-insaturado (dos “dobles ligaduras”), ácido linoleico. Entre el carbono 6 y 7 (de izquierda a derecha) está un doble enlace (dos guiones), esto representa que, cada uno de estos dos carbonos tiene “desocupado el espacio para un hidrógeno” y en consecuencia, esta parte de la molécula será propensa a reaccionar fácilmente. Nota: Los ácidos grasos insaturados tienen su razón de ser en la fisiología.
- 2) Se amplía la sección del ácido graso en cuestión, los carbonos 6 y 7. Los dos círculos grises representan el lugar donde deberían estar dos hidrógenos para que los carbonos 6 y 7 tuvieran ocupados sus 4 electrones de valencia. También se muestra con detalle cómo se une el hidrógeno al carbono mediante electrones (un punto es el electrón del hidrógeno y el otro es uno de los electrones del carbono; nota: en un Diagrama de Puntos de Lewis, dos puntos de enlace se transforman en un guion).
- 3) Pues bien, un Radical hidroxilo OH·, que está libre en el medio, muestra que su oxígeno tiene un electrón desapareado y, esto lo hace muy activo para robar un electrón al hidrógeno del carbono insaturado; lo consigue y el radical OH se convierte en una molécula de agua (HOH = H<sub>2</sub>O) que ya es estable, pero ahora queda inestable el carbono 7 del ácido graso, que se ha convertido a su vez en un Radical orgánico.
- 4) Se muestra el carbono 7 con 1 electrón desapareado.
- 5) En el medio hay oxígeno molecular “normal” (O<sub>2</sub>), con sus seis electrones de valencia, todos por pares (apareados), pero el ácido graso en su carbono 7 está inestable y atrapa al oxígeno molecular,
- 6) Ahora el ácido graso es un radical peroxilo, pero el oxígeno tiene ahora un electrón desapareado, entonces la molécula de ácido graso sigue inestable. Esto altera la funcionalidad del ácido graso, por ejemplo, si forma parte de la membrana celular ésta se ve afectada (las dobles ligaduras son necesarias porque curvan al ácido graso dándole flexibilidad a la membrana). El ácido graso sigue reaccionando hasta que llega a fragmentarse. Es una reacción destructiva en cadena que sigue y sigue, aquí sólo se mostraron los pasos iniciales.

En el siguiente esquema se mostrará toda la vía oxidativa, sin y con antioxidantes.

## Vía oxidativa en organismo, con y sin antioxidantes.

Es el mismo esquema, pero se presenta en “dos momentos”: El primer momento tiene a su vez dos partes: 1) La ruta de formación de radicales libres a partir del Oxígeno en mitocondrias y 2) La oxidación de un ácido graso; todo esto en ausencia de antioxidantes. El segundo esquema “(momento)” es igual al primero pero, se agregan los sistemas de antioxidantes en los distintos niveles en los que actúan

### ESQUEMA 1 VÍA OXIDATIVA (sin antioxidantes).



#### 1) FORMACIÓN DE RADICAL LIBRE.

Se inicia con el **oxígeno molecular (O<sub>2</sub>)** que interviene en la respiración en la mitocondria pero, algunas reacciones de transferencia de electrones son defectuosas y se forman ROS, **Anión Súper Óxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)**.

El Anión Súper Óxido tiene un electrón desapareado y busca estabilizarse, reacciona con Hidrógenos del medio y se forma **Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**.

En presencia de Hierro, este capta oxígeno y se forma el peligroso **Radical Hidroxilo (HO•)** cuyo oxígeno tiene un electrón desapareado.

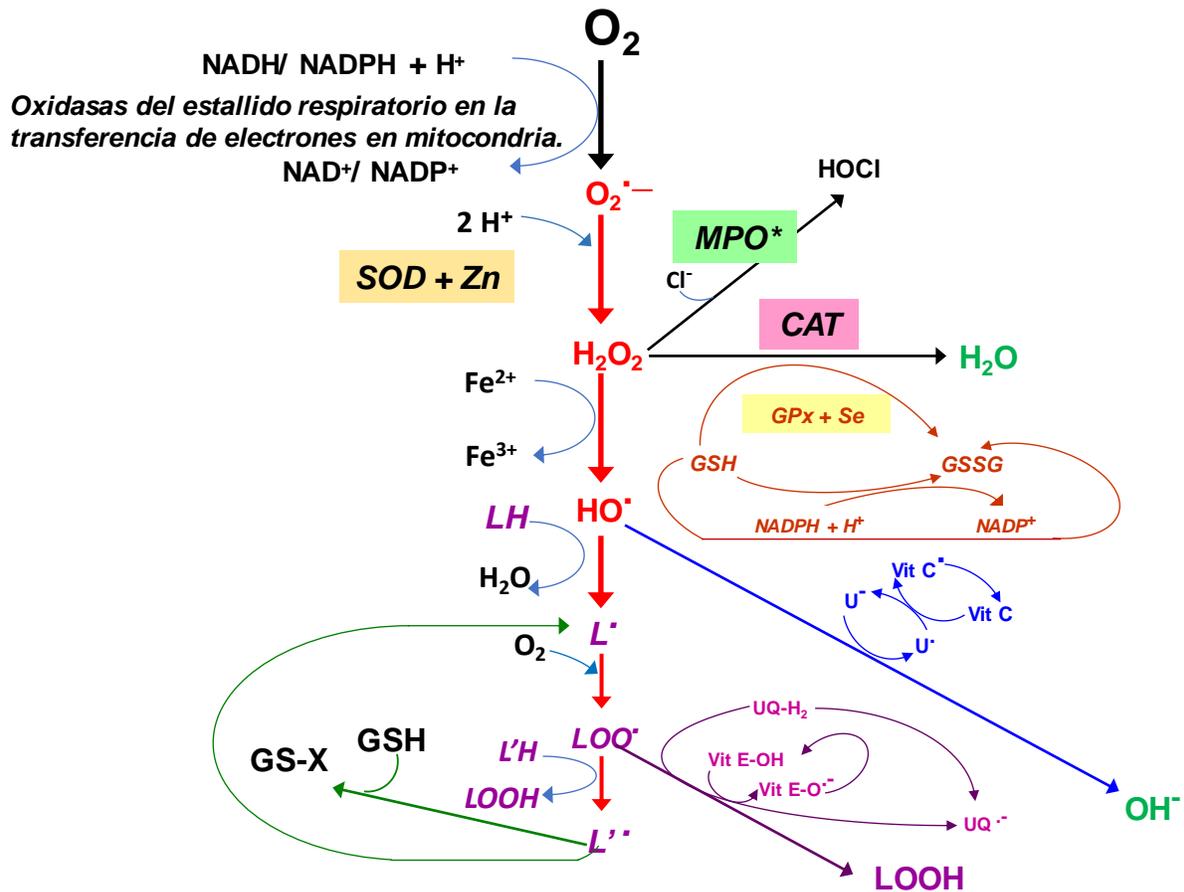
#### 2) OXIDACIÓN DE ÁCIDO GRASOS.

Como habíamos visto en el esquema de oxidación de ácido linoleico, el Radical Hidroxilo reacciona en una de las dos dobles ligaduras del **ácido graso (LH)**, el Radical Hidroxilo se estabiliza formando agua, pero el ácido graso se convierte en **Radical Ácido Graso (L•)**, ahora él lleva la inestabilidad.

El Radical Ácido Graso capta oxígeno del medio y se convierte en **Lípido Peróxido (LOO•)**, este reacciona con otro ácido graso (L'H) y se forma otro **Radical Ácido Graso (L'•)**

Es una reacción en cadena basada en la formación de compuestos inestables → “robo” de electrones → nueva molécula inestable (electrones desapareados) → nuevo “robo” de electrones y así, hasta la fragmentación de moléculas.

ESQUEMA 2.  
VÍA OXIDATIVA Y NIVELES DE ACCIÓN DE ANTIOXIDANTES.



Explicación.

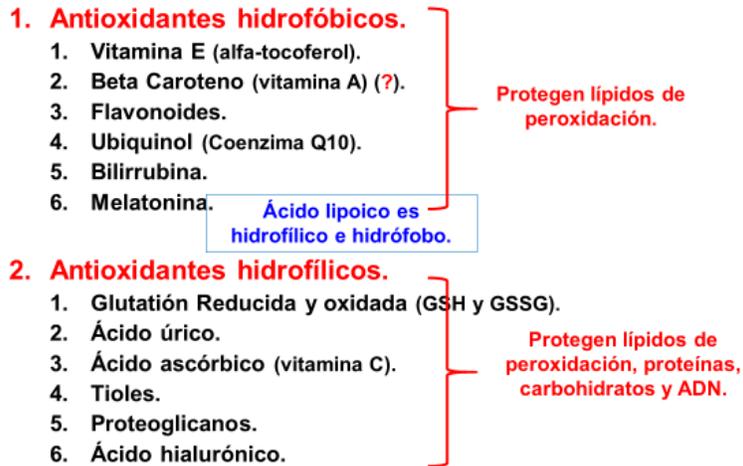
- Sobre la primera parte del esquema (vía oxidativa), se han colocado los diferentes sistemas de antioxidantes que se describen a continuación.
- Cada antioxidante implica varias reacciones que no se describen aquí, se trata de tener un **panorama integral**.

- 1) **SOD** (Súper Óxido Dismutasa) + **Zinc** (Zn) evita la conversión del **Anión Súper Óxido ( $O_2^{\bullet-}$ )** a **Péroxido de Hidrógeno**.
- 2) **Mieloperoxidasa** (MPO) transforma el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en **ácido hipocloroso (HOCl)**, antimicrobiano.
- 3) **CAT** (Catalasa), convierte el **Péroxido de Hidrógeno** en Agua ( $H_2O$ )
- 4) **Glutatión Peroxidasa** (GPx) + **Selenio** (Se), **GSH** = Glutatión reducida, **GSSG** = Glutatión Oxidada, **NADPH** = Nicotínamida Adenina Fosfato.
- 5) **GS-X** = Glutatión unida a un oxidante.
- 6) **Vitamina C** (Vit C) y **Ácido Úrico** (U), transforman al **Radical Hidroxilo ( $HO^\bullet$ )** en anión Hidróxido que es estable ( $OH^-$ ).
- 7) **Vitamina E** (Vit E) y **Ubiquinona** (UQ).

### Comentarios acerca de las enzimas antioxidantes:

- Las tres más importantes son:
  - Súper Óxido Dismutasa (SOD).**
  - Catalasa (CAT).**
  - Glutati6n Peroxidasa (GPx).**
- Estas tres, trabajando en "equipo", transforman al Anión Súper Óxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) en Per6xido de Hidr6geno ( $H_2O_2$ ), y a este en agua. O sea, impiden que el  $H_2O_2$  se transforme en el peligroso Radical Hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ).
- El Anión Súper Óxido de todas formas se convierte en Per6xido de Hidr6geno, pero gracias a las enzimas antioxidantes se reduce la cantidad a la mitad.
- El Selenio (Se) es catalizador de SOD mientras que el Zn, Cu y Mn son catalizadores de la GPx.

### Clasificaci6n de las enzimas antioxidantes con relaci6n al medio acuoso.



### Reparaci6n.

Si no funcion6 la antioxidaci6n de los componentes celulares, pueden activarse mecanismos que: 1) Provocan lisis o reparaci6n de: proteínas, lípidos, material nuclear oxidados; así se minimizan repercusiones funcionales del daño oxidativo.

### Medici6n y diagn6stico de estr6s oxidativo.

Hay que considerar que la medici6n de: 1) Oxidantes, 2) Marcadores de oxidaci6n, 3) Elementos pro-oxidantes y de 4) Antioxidantes no define *per se* un estr6s oxidativo; m6s bien es una caracterizaci6n del Equilibrio Oxidantes/ antioxidantes (Equilibrio O/A).

La medici6n del Eq O/A debe ser global; y por tanto, debe incluir: 1) Mol6culas blanco de diferentes tipos (lípidos, proteínas, ADN), 2) Diferentes antioxidantes (enzimas, antioxidantes lipof6licos y antioxidantes hidrof6licos), 3) Oxidantes. Pero la medici6n de radicales libres requiere de equipo complejo y pocas veces disponible.

Lo m6s utilizado es la medici6n de: 1) Marcadores de oxidaci6n, 2) Elementos pro-oxidantes, 3) Antioxidantes.

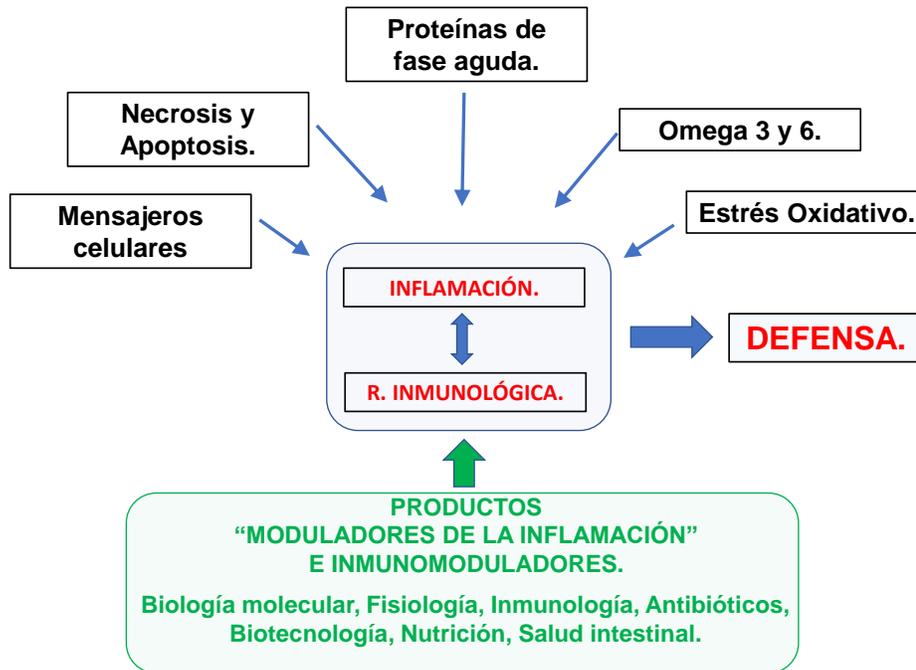
### Notas sobre suplementaci6n de Antioxidantes.

- Las vitaminas antioxidantes son susceptibles a la oxidaci6n y tienen una limitada vida media; por tanto, no almacenarlas por tiempo prolongado).
- La biodisponibilidad de minerales traza puede variar en presencia de otros, esto provoca variaci6n de la eficiencia de suplementos comerciales.
- Las concentraciones de vitaminas o elementos traza suplementados pueden ser r6pidamente detectadas en sangre, pero los efectos ben6ficos en el E O/A pueden tardar 4 a 8 semanas (si es que suceden y se pueden medir).

**Para finalizar.**

Cada uno de los subtemas aquí expuestos es complejo y requiere mucha profundización y actualización constante; pero el objetivo de esta conferencia ha sido:

1. Integrarlos alrededor la “modulación de la inflamación”.
2. Comprender con toda claridad sus bases bioquímicas y/ o fisiológicas.
3. Atender el ambiguo concepto de “modulación de la inflamación” que es proclama de muchos y muy diversos productos comerciales, así estaremos mejor informados.



**FIN.**

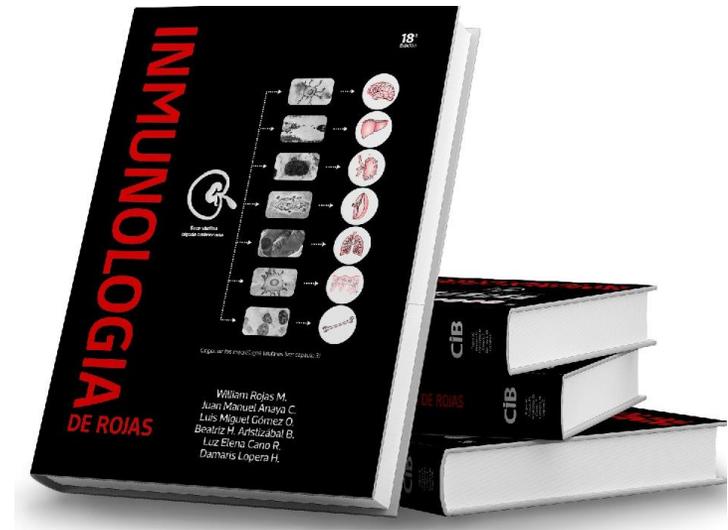
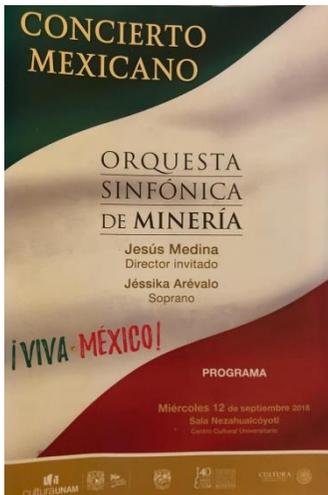
# **Demanda Nutricional y Variación del Proceso Inmunológico en Cerdos Desafiados con Antígenos de Campo**



Luis-Miguel Gómez, MVZ, MSc, PhD.  
Director de Investigación y Desarrollo, Solla S.A. Colombia  
Profesor Inmunología y Nutrición, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Universidad CES, Colombia.

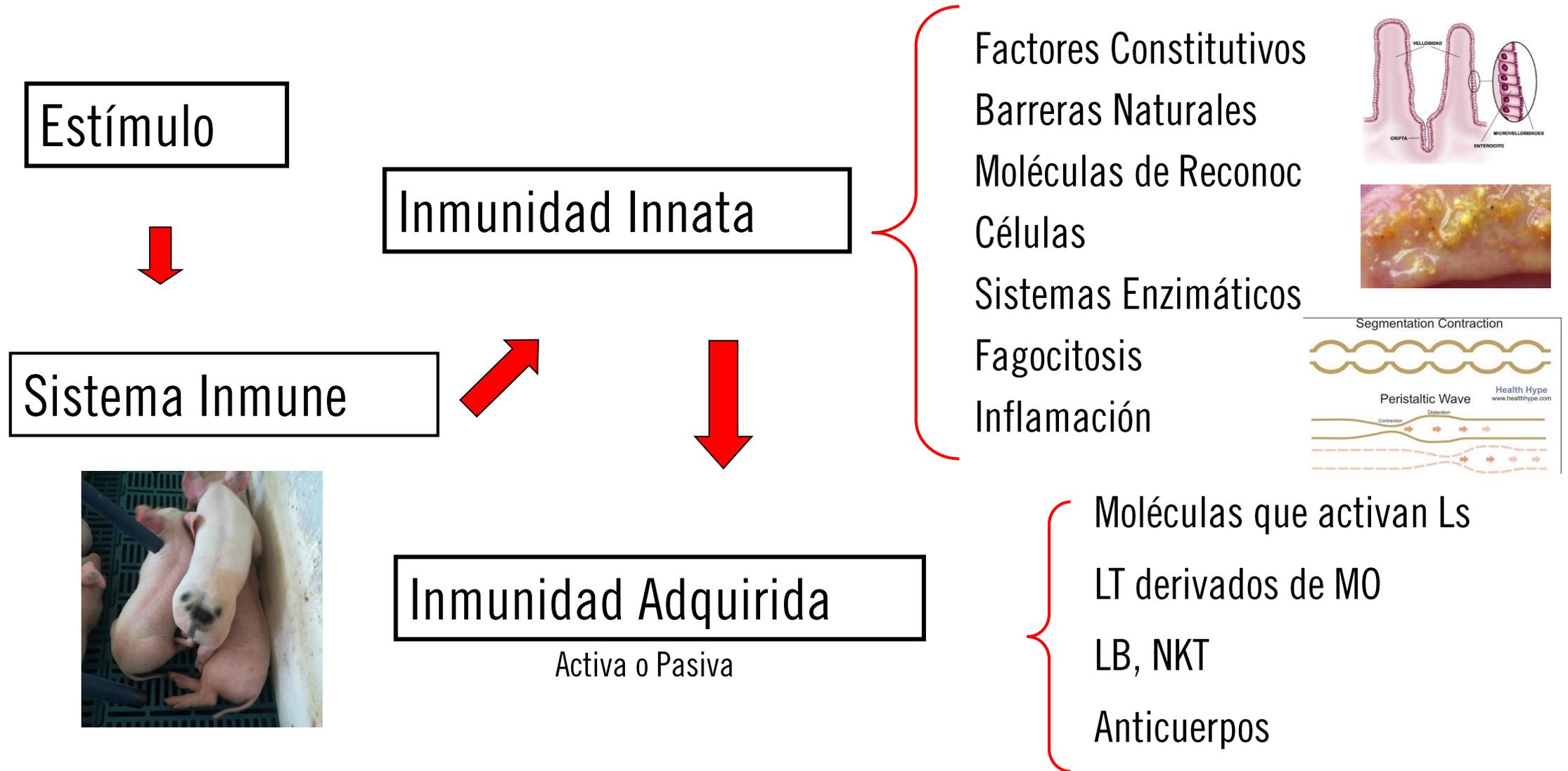
# Definición de Sistema Inmune

“Acción *conjunta* y *coordinada* de *células* y *moléculas* que nos defienden de agresiones *externas* e *internas*”



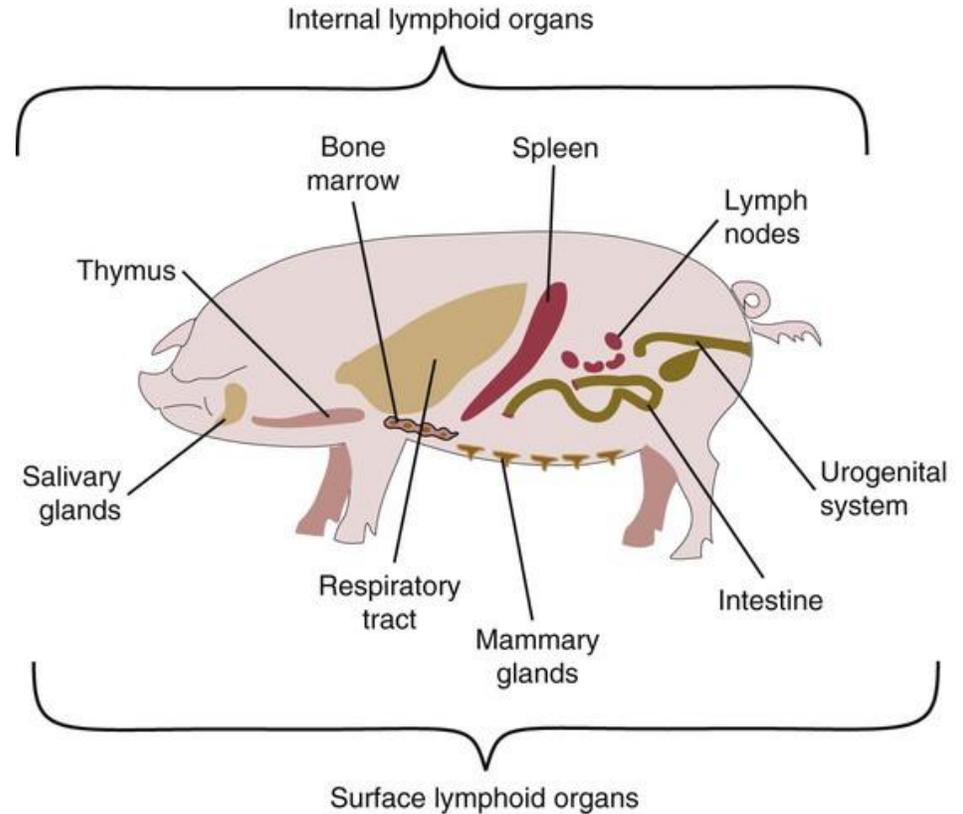
Rojas et al. Inmunología de Rojas Ed CIB, 2017.

# ¿Cómo funciona el Sistema Inmune (SI)?



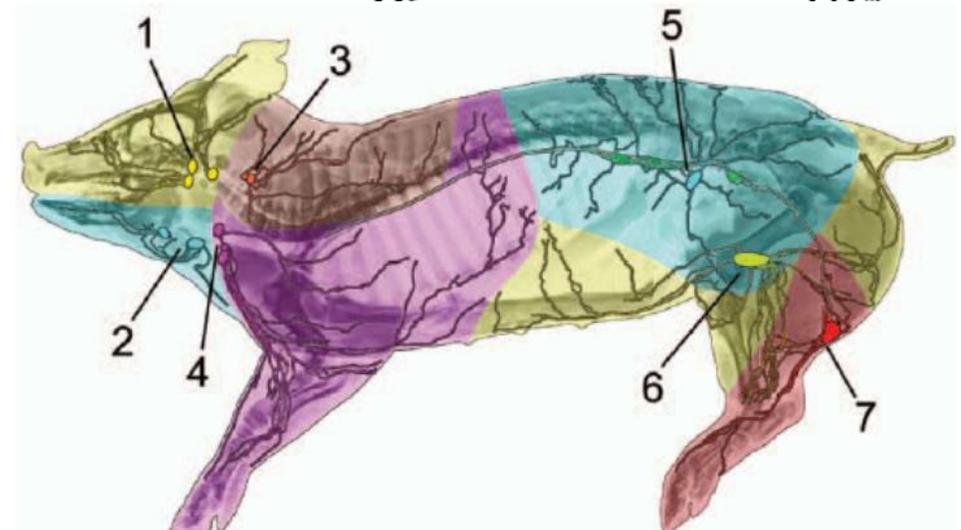
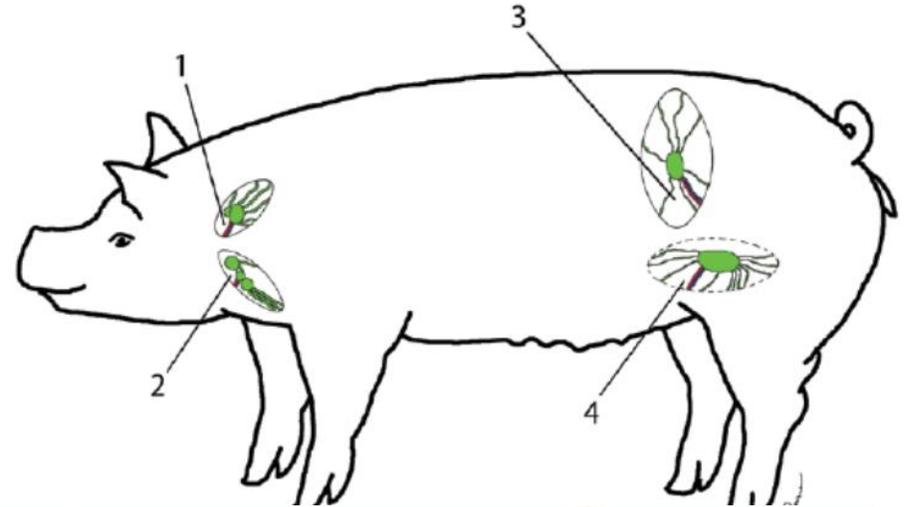
# Características únicas del cerdo (Sistema Inmune)

- ✓ Órganos linfoides primarios y secundarios
- ✓ MO y Timo
- ✓ NL, MALT, Tonsilas, GALT, BALT.
- ✓ Clasificación por la generación y regulación de Ls

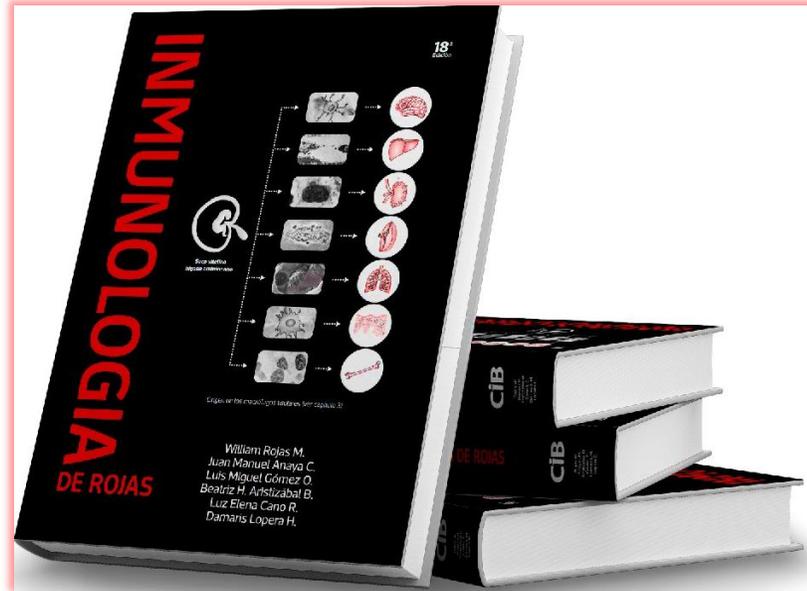


# Definición OL

- ✓ Predominan los linfocitos
- ✓ Ambiente eficiente para promover encuentros
- ✓ Regulación de la respuesta de Ls
- ✓ Clasificación por la generación y regulación de Ls



# Inmunología de Rojas, 2017



## Nutrición y respuesta inmune

15

Gómez L. M., Rojas W., Aristizabal B., Cano L. E., Lopera D.

### 15-I GENERALIDADES

El funcionamiento del sistema inmune requiere de una gran variedad de nutrientes. El estudio de dicha interacción está en auge. En este capítulo estudiaremos las interacciones esclarecidas hasta el momento. En el capítulo 35, "Inmunodeficiencias secundarias", se estudian las consecuencias que la carencia de alguno o varios de los nutrientes puede tener.

centígrado en la temperatura, fiebre, implica un gasto energético equivalente al de una persona que camine 45 km ( $9,4 \times 10^6$  julios).

Los nutrientes llegan por el intestino. Las células del epitelio intestinal expresan los siguientes receptores para nutrientes: T1R1/T1R3 y GPR93 para proteínas y aminoácidos; GPR40, GPR41, GPR43 y GPR120 para ácidos grasos; T1R1/

# ...Definiciones

## Nutrientes



- ✓ Alimento o Sustancia Bioquímica Usada por el Cuerpo
- ✓ Debe Ser Suministrada en Cantidades **Adecuadas** en los Alimentos Consumidos.

Agua

Carbohidratos

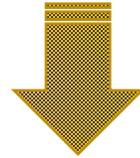
Lípidos

Vitaminas

Proteínas

Minerales

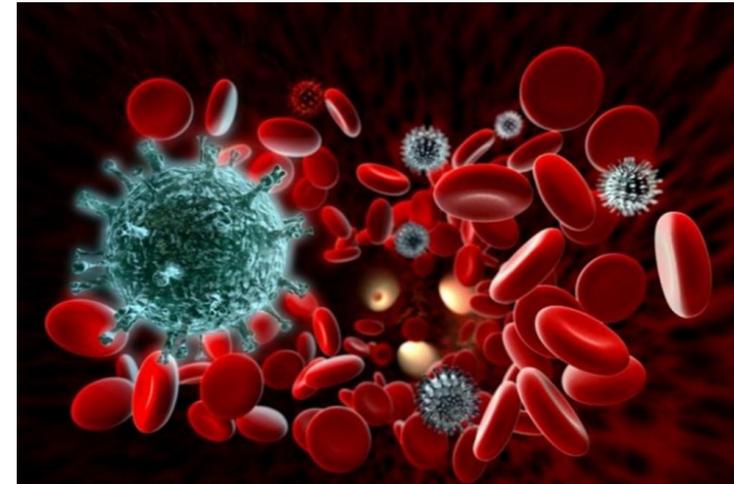
- ✓ Acción Conjunta y Coordinada de **Células** y **Moléculas**



Defendernos de las Agresiones **Externas** e **Internas**

*Medical Dictionary, 2017*  
*Rojas et al, Inmunología de Rojas, 2017.*

## Sistema Inmune



# Introducción (relación Inmunidad-Nutrición)

- ✓ Óptimo estado
- ✓ Protección frente a enfermedades
- ✓ Proceso se genera inflamación para combatir infección
- ✓ Inflamación = inhibe desempeño (↓ consumo de alimento)
- ✓ Restricción de a.a. limitantes
- ✓ ↓ inflamación ↑ desempeño cerdos

# ¿Cómo se afecta el SI en los cerdos?



**Edad**  
(Lavoie, 2006)

**Dieta: composición**  
(Carbajal *et al*, 2010)



**Consumo de alimento y energía**  
(Jang *et al*, 2009)

**Estrés**  
(Shini *et al*, 2010)



**Sistema Inmune**

**Otros**

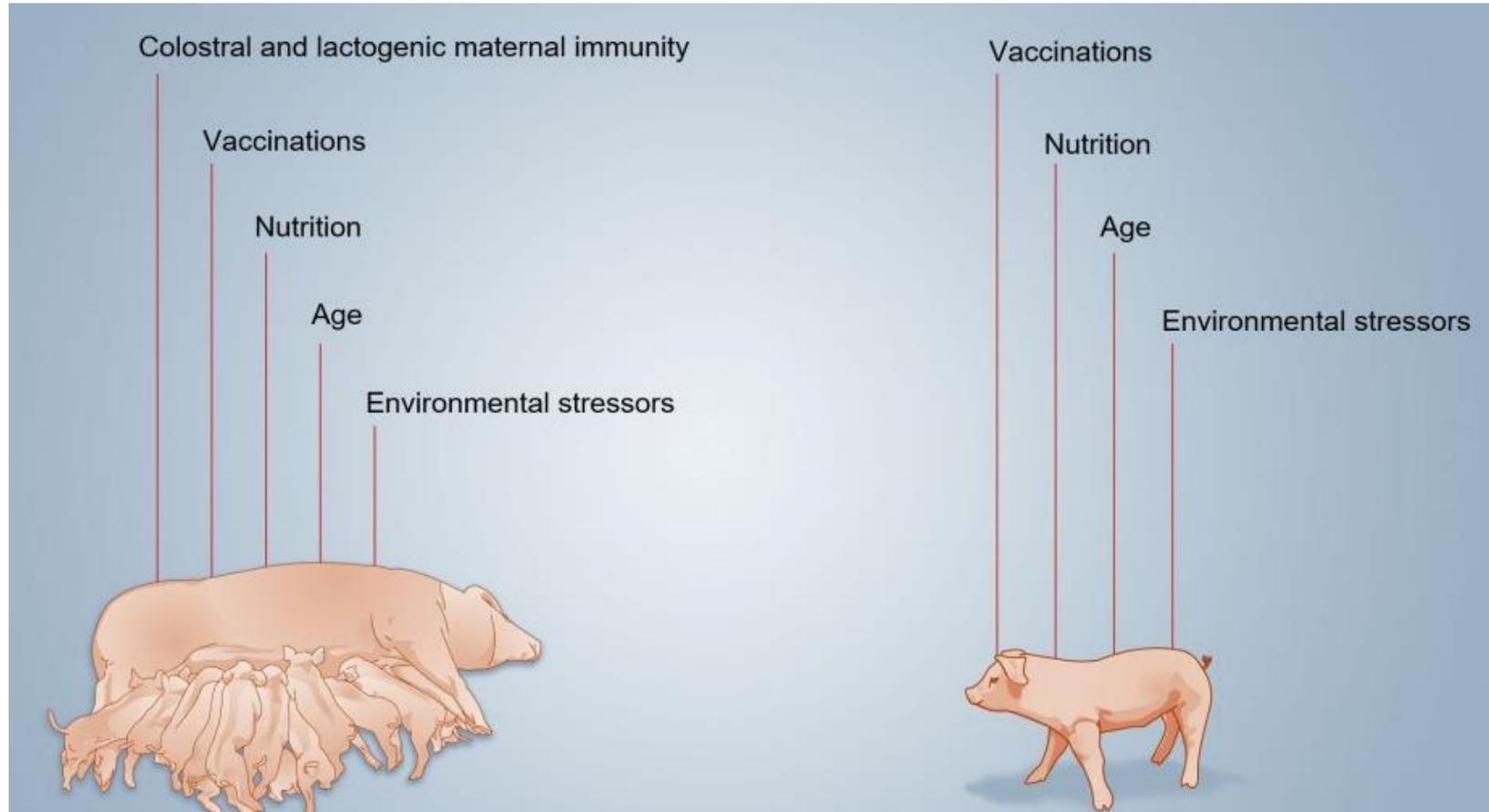
**Ambiente**  
(Niu *et al*, 2009)



**Potencial genético para crecimiento**  
(Redmond *et al*, 2010)



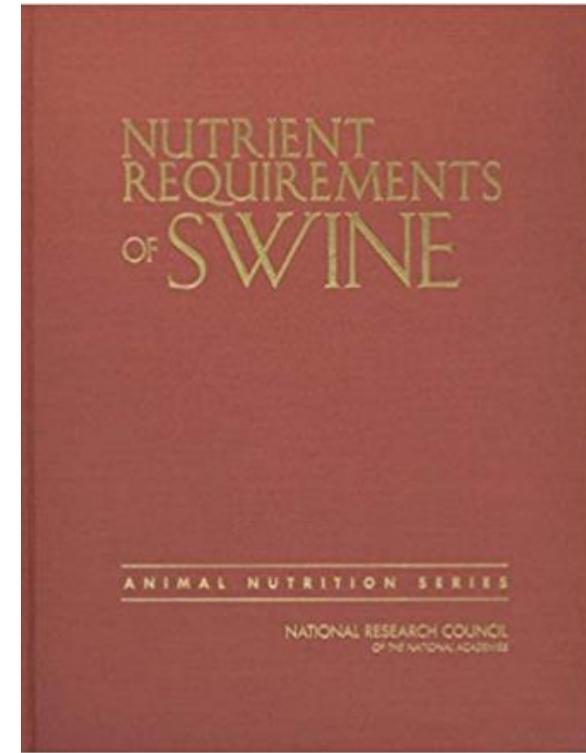
# Factores que influyen en la inmunidad innata neonatal



[https://www.pig333.com/articles/the-immune-system-and-immunity-in-swine-maternal-and-neonatal-immunit\\_13708/](https://www.pig333.com/articles/the-immune-system-and-immunity-in-swine-maternal-and-neonatal-immunit_13708/)

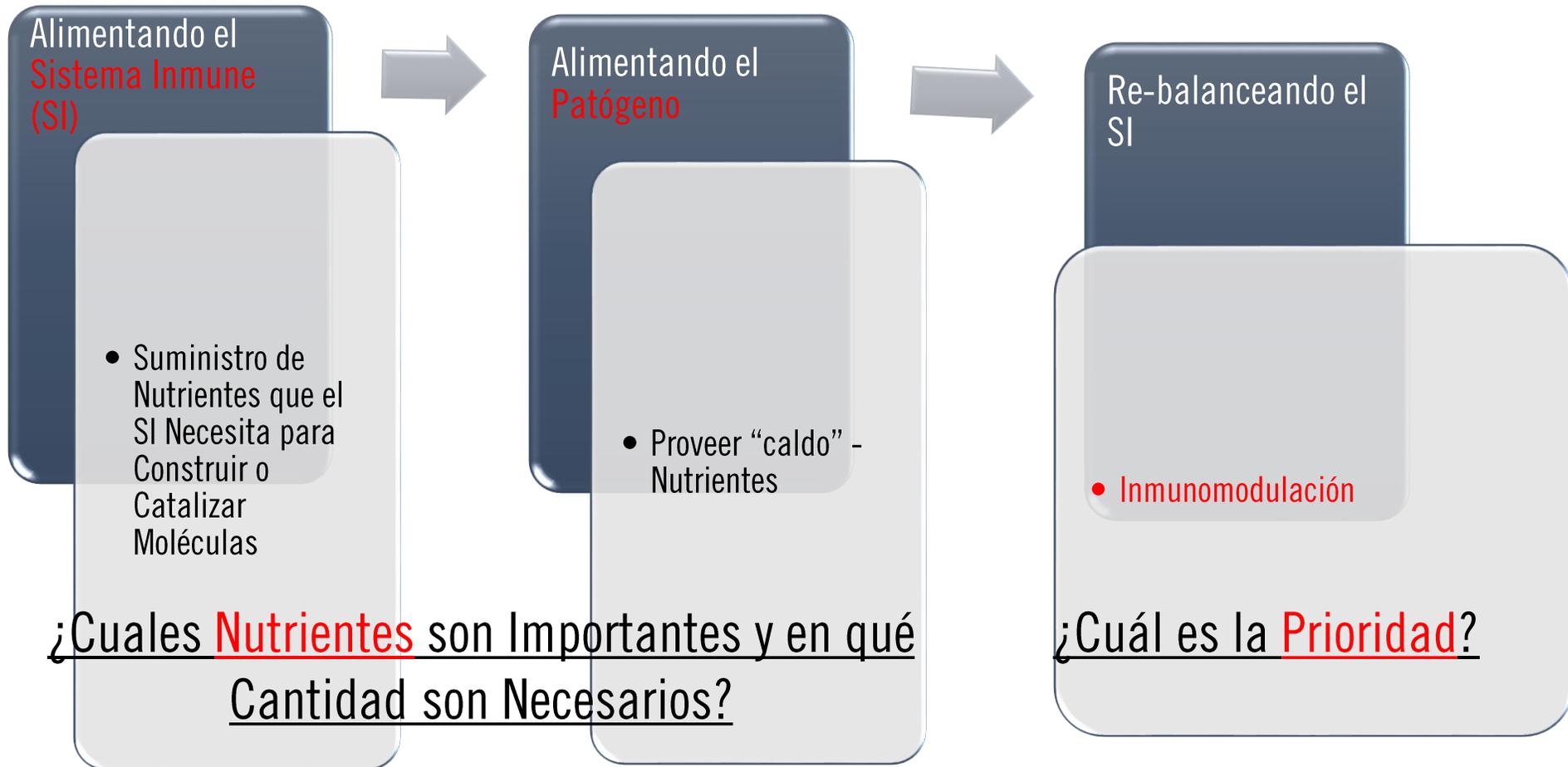
# Impacto de los cambios de la dieta en la inmunidad

- ✓ Requerimientos de NRC 2012 (Preinicio, Inicio, Levante, Engorde, Finalización)
- ✓ Requerimientos comerciales  $\neq$  NRC (Lys, Thr, Met, Try)
- ✓ Dietas cambiantes (impactos en microbiota)
- ✓  $\uparrow$  requerimientos rendimiento en canal vs. crecimiento
- ✓ Nutrientes diferentes para SI vs crecimiento y rendimiento en canal
- ✓ Papel de la Inmuno-modulación: Nutricional y farmacológica



Nutrient requirements of swine, 2012

# Tres Aspectos Claves



# El Sistema Inmune es Costoso

Process	Normal		LPS challenged	
	Production (mg/kg/d)	Cost ( $\mu\text{mol lysine/kg/d}$ ) <sup>2</sup>	Production (mg/kg/d)	Cost ( $\mu\text{mol lysine/kg/d}$ ) <sup>2</sup>
Leukopoiesis in all tissues	650	45.5	1 300	90.9
Immunoglobulin synthesis <sup>3</sup>	114	65.6	121	69.6
Acute-phase protein synthesis	$\sim 0^2$	$\sim 0$	710	386
Total for immunocompetence	764	111.1	2 131	546.5
Body weight gain <sup>3</sup>	85 000	5 950	72 446	5 212
Lysine intake	–	9 520	–	8 311
% of intake used for immune processes		1.17		6.71
% of intake used for growth		62.50		62.70

Klasing and Calvert, 2000.

# ¿Cual es el costo **nutricional** y **metabólico** de la activación del sistema inmune en cerdos?

- ✓ Respuesta de fase aguda (IL-1, TNF, IL-6)

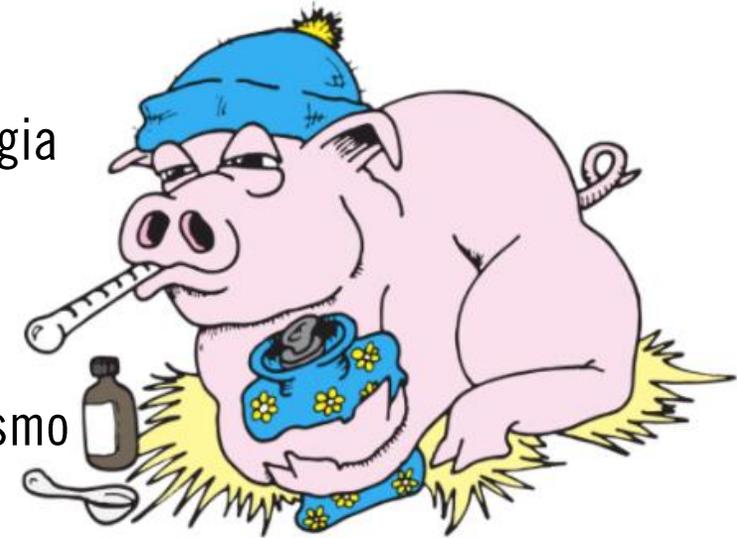
Somnogénico, falta de exploración social, ↓ apetito, letargia  
Depresión, anorexia, pirexia ( $\uparrow 1^{\circ}\text{C}$   $\uparrow$  TMB 10-15%)

- ✓ Citoquinas

Re-direccionamiento de nutrientes: anabolismo-catabolismo  
Deaminación como fuente de energía

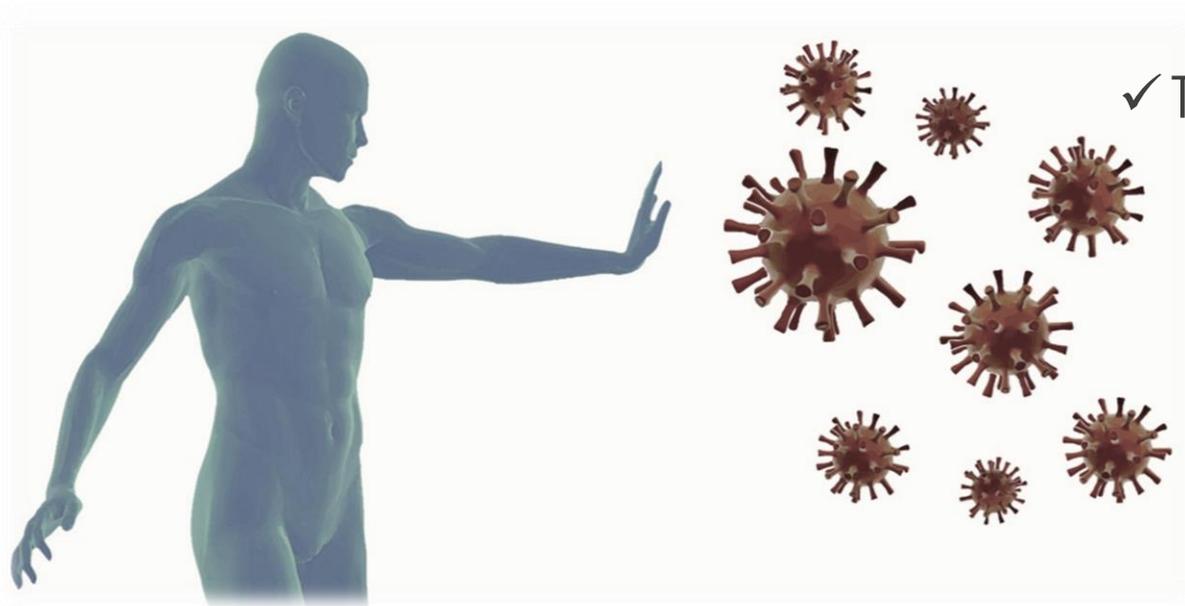
- ✓ Recuperación

24 kcal para depositar 1 g de proteína



Gruys et al, 2005  
Klasing, 2007  
Dantzer et al, 1993  
Roura et al, 1992  
Scrimshaw, 1991

# Influencia de los Nutrientes como Inmunomoduladores



✓ Tipo de Desafío

✓ Tipo de Respuesta

✓ Intensidad de Respuesta

✓ Duración de la Respuesta

# ¿Cómo se estudia el efecto de los nutrientes sobre el sistema inmune?



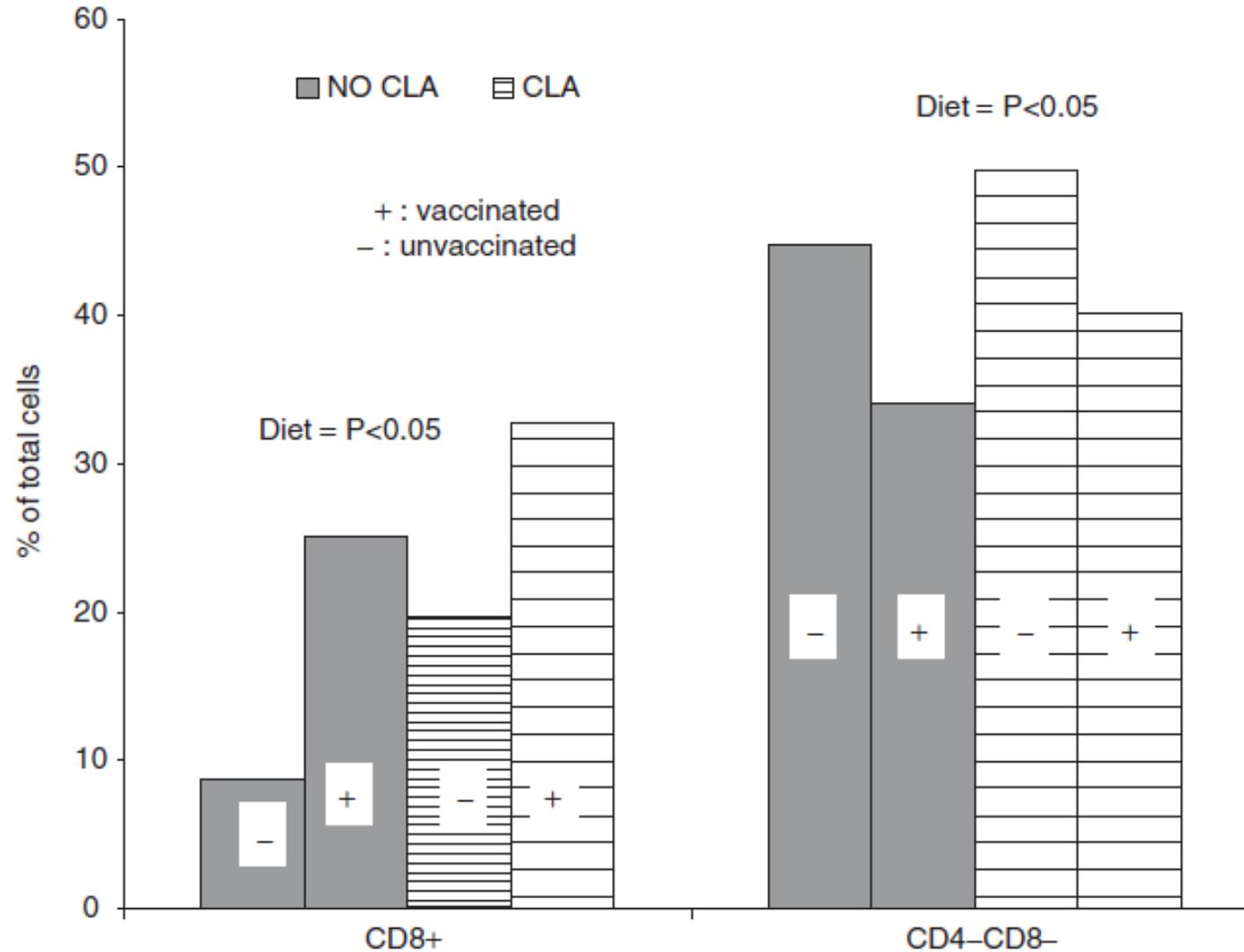
Experimental

- Mejor salud y pocos retos inmunológicos
- Menor densidad
- Mejor bioseguridad (AIAO)
- Reto “artificial”

Comercial

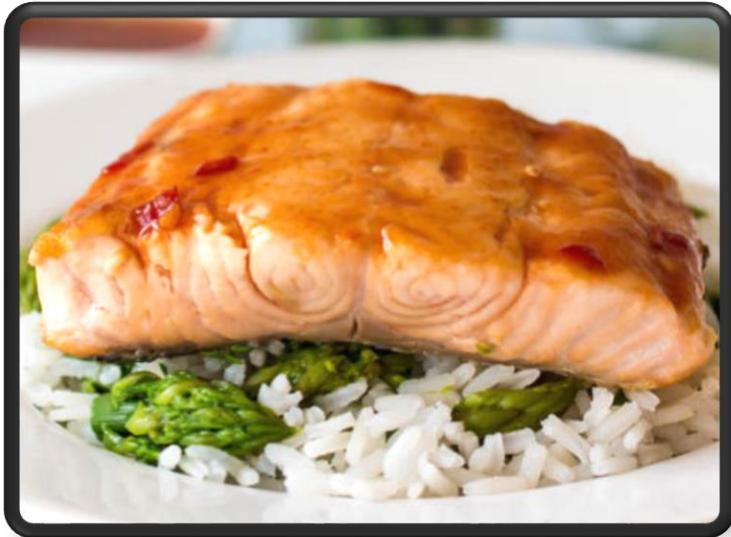
- Factores de confusión
- Menor control de variables
- Altos retos inmunológicos
- Retos “naturales”

# ¿Cómo los nutrientes afectan el desarrollo del sistema inmune?



# Lípidos-Tejido Adiposo

- ✓ Depósito de Nutrientes
  - ✓ Sensor Falta de Nutrientes: Hormonas Alteran Metabolismo
    - ✓ Gluconeogénesis



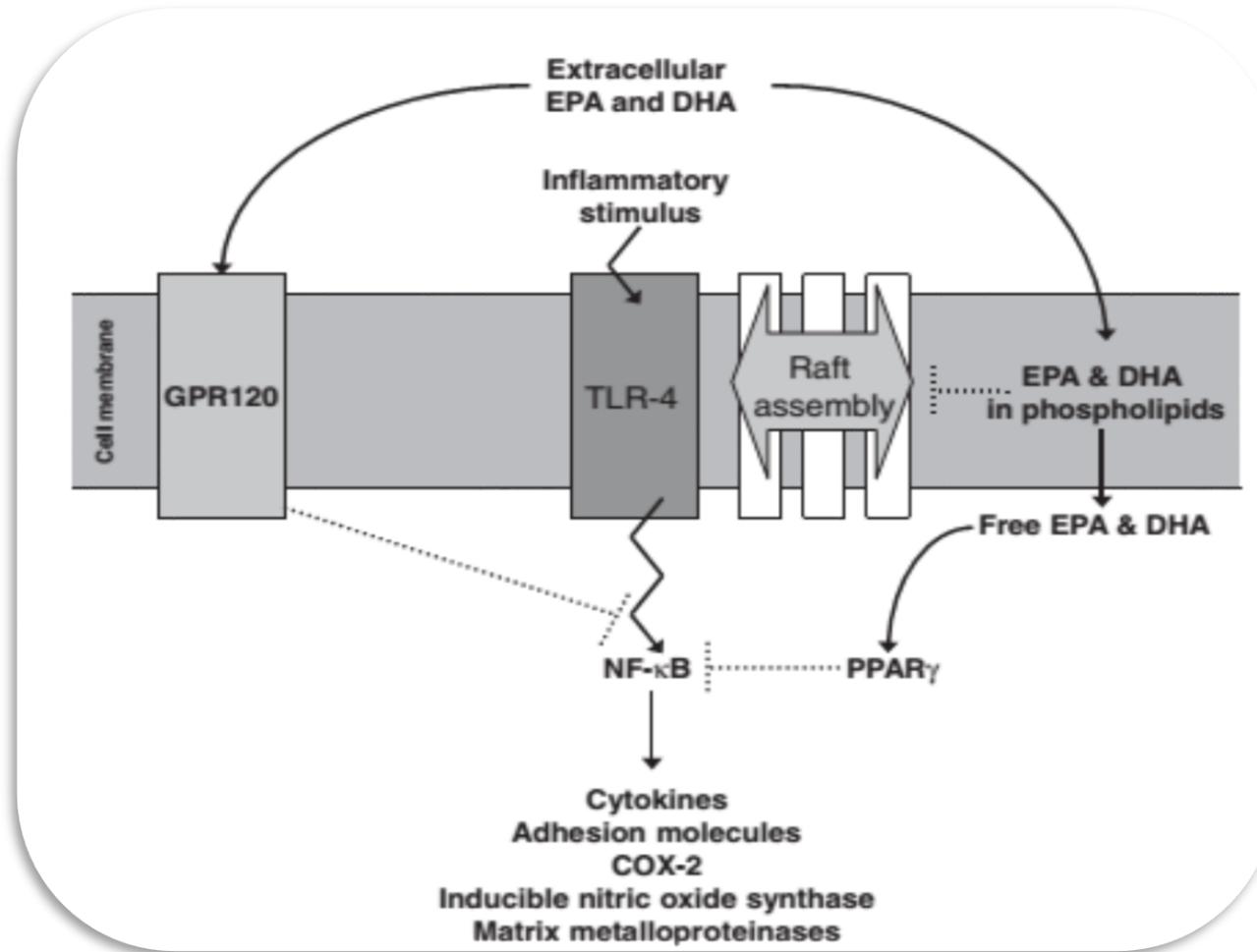
- ✓ Apetito: Grelina-leptina
  - ✓ Adipoquinas

✓  $IMC > 25 \text{ kg/m}^2 = \uparrow \text{ Ls y Macrófagos}$

✓ Obesidad = Inflamación Crónica



# Omega 3 y Sistema Inmune



1. GPR120
2. Desarme Balsas Lipídicas
3. PPAR $\gamma$

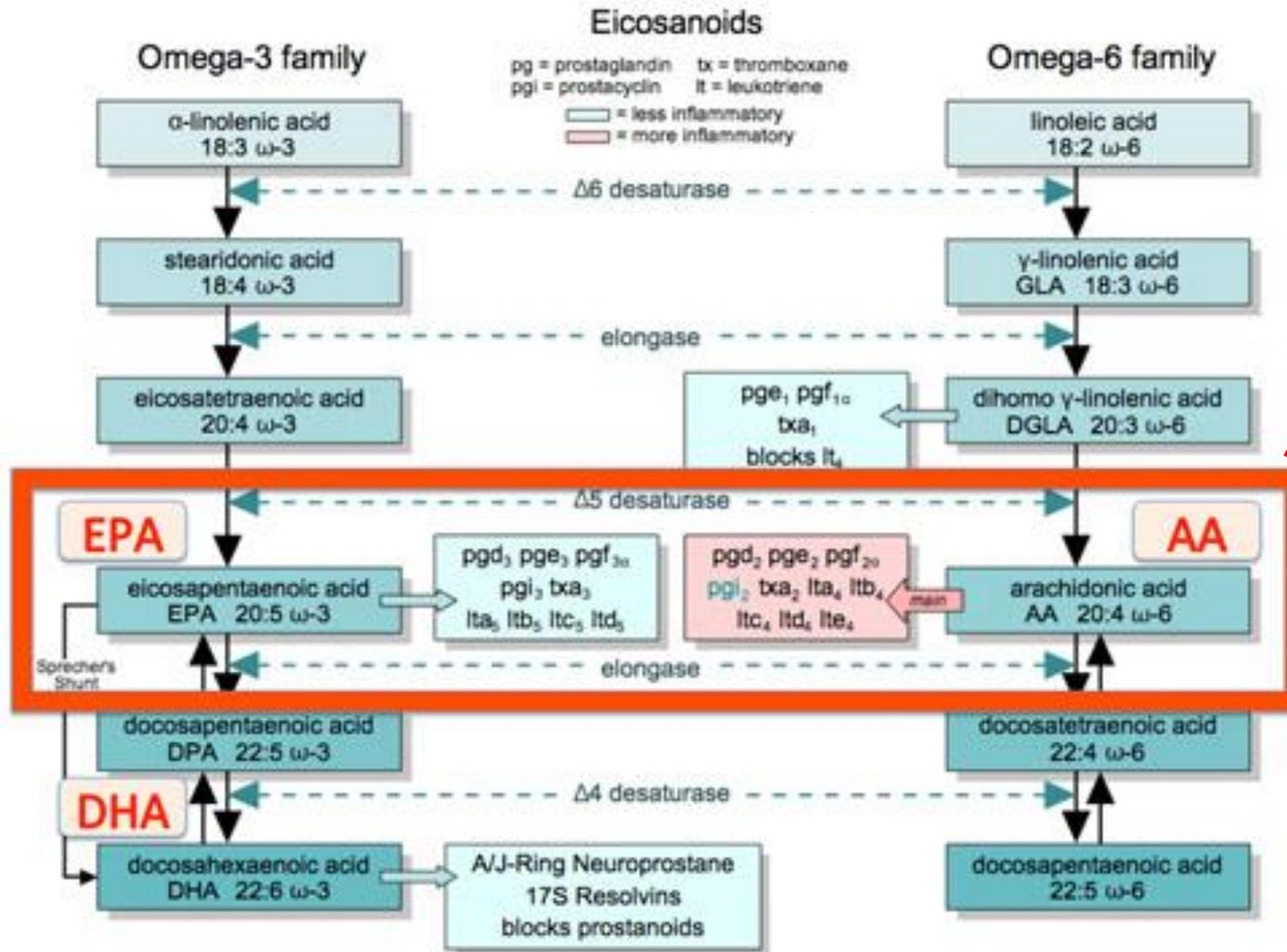
↓ Inflamación sistémica

↓ Th1: inmunidad celular

↑ Th2: anticuerpos

*Calder, 2013.*

# Efectos de los lípidos



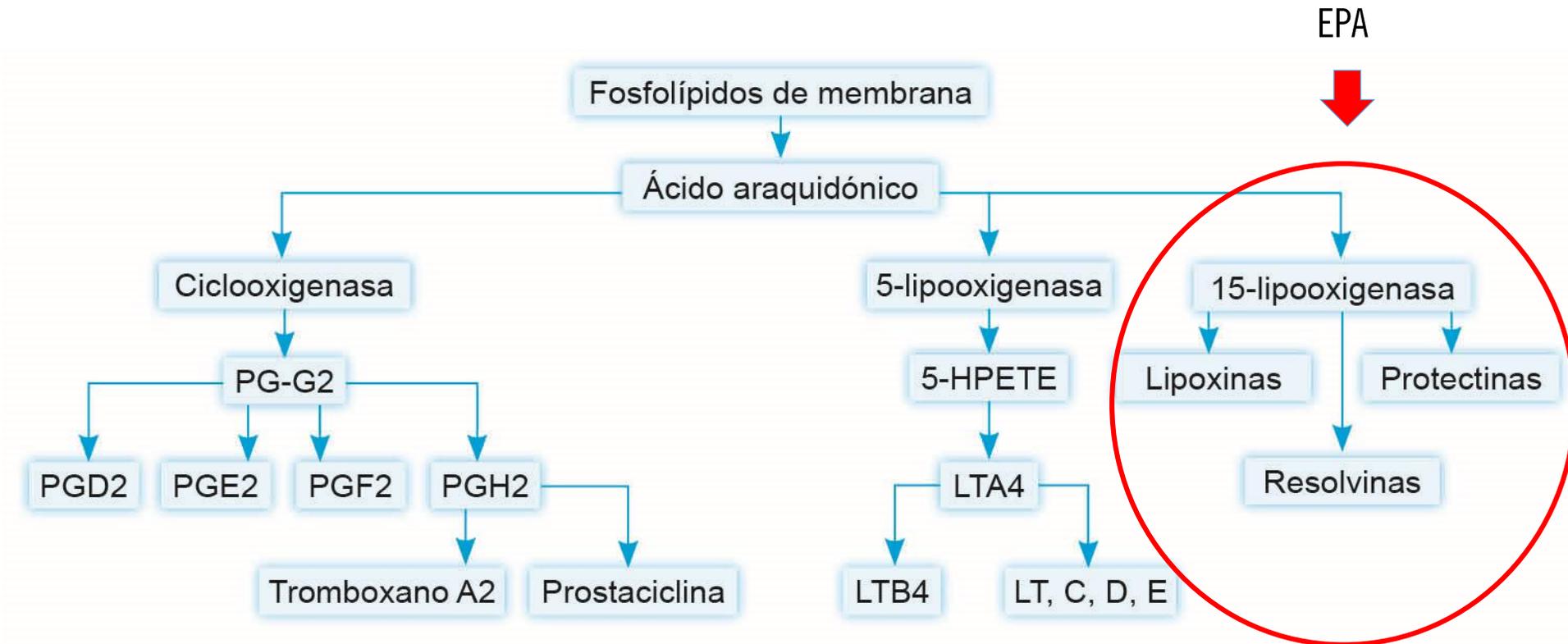
Inhibición del NFκB

↓ Adhesividad plaquetas

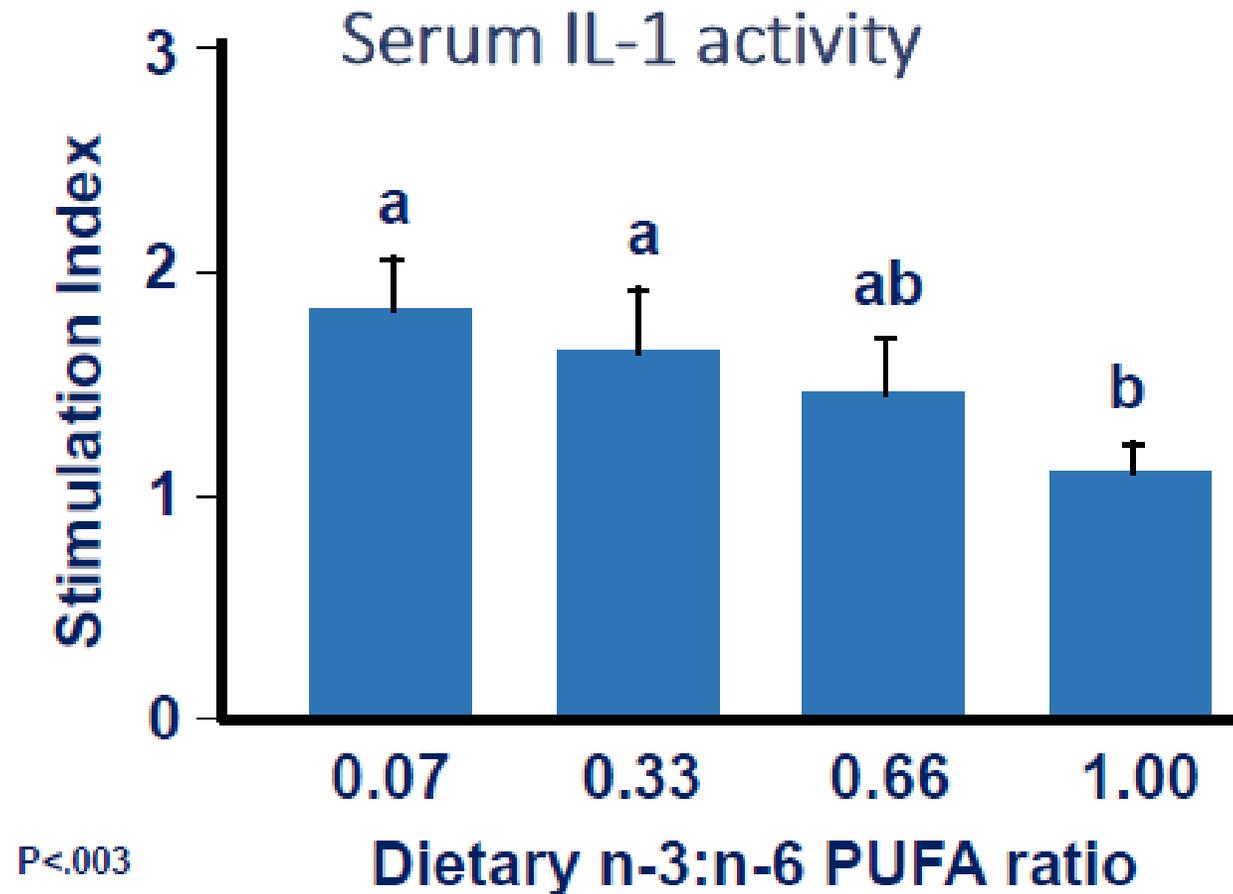
↑ función LsT y Neu

↑ Estabilidad de M. celular y perfusión microvascular

# Ácidos grasos esenciales



# Efecto del n-3 sobre índice de respuesta inflamatoria



# Proteínas...



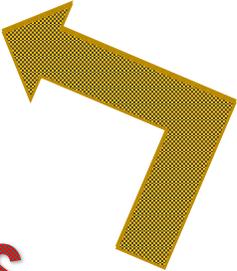
El SI está hecho de proteínas: receptores, citoquinas, Igs, etc

Los aminoácidos son fundamentales para la activación de LsT, LsB, NK y Macrófagos, expresión de genes, proliferación de Ls

Dietas ↑ en proteínas = proteínas séricas y ↑ transferrina

No se necesitan todos los componentes de las proteínas.  
Se prioriza sobre algunos aminoácidos

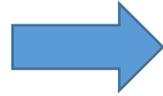
# ...y Aminoácidos



# Impacto de la proteína total sobre sistema inmune



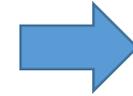
18 lechones  
(Duroc×Landrace×Yorkshire)  
destetados 28 d



20% PC

17% PC

14% PC

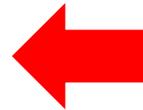
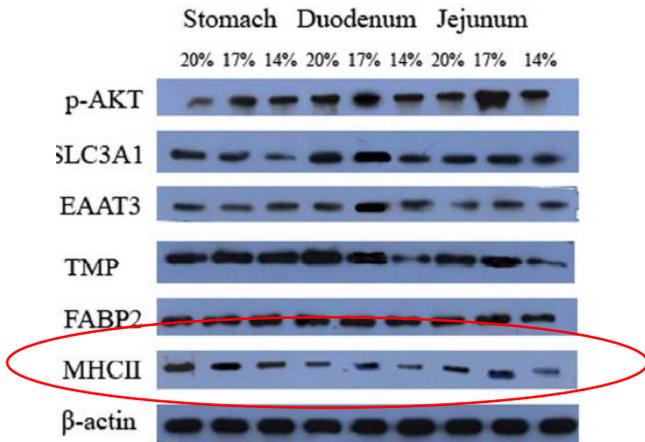


45 días



Tissue	Item	identified protein	Up-regulated protein	Down regulated protein
Gastric antrum	17% CP VS 20%CP	5203	23	14
	14% CP VS 20%CP		69	96
mid-duodenum	17% CP VS 20%CP	5361	40	57
	14% CP VS 20%CP		38	37
mid- jejunum	17% CP VS 20%CP	3671	114	50
	14% CP VS 20%CP		85	45

Análisis de Proteómica

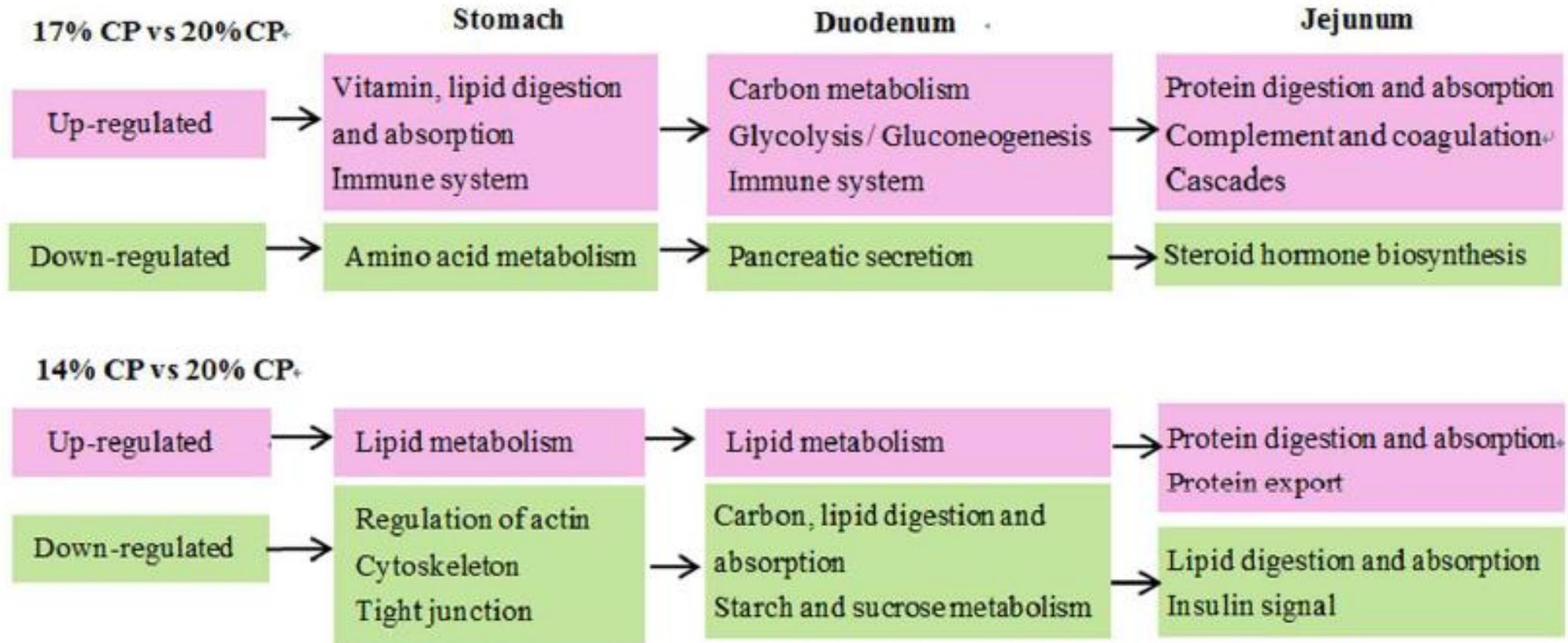


# Efectos en desempeño

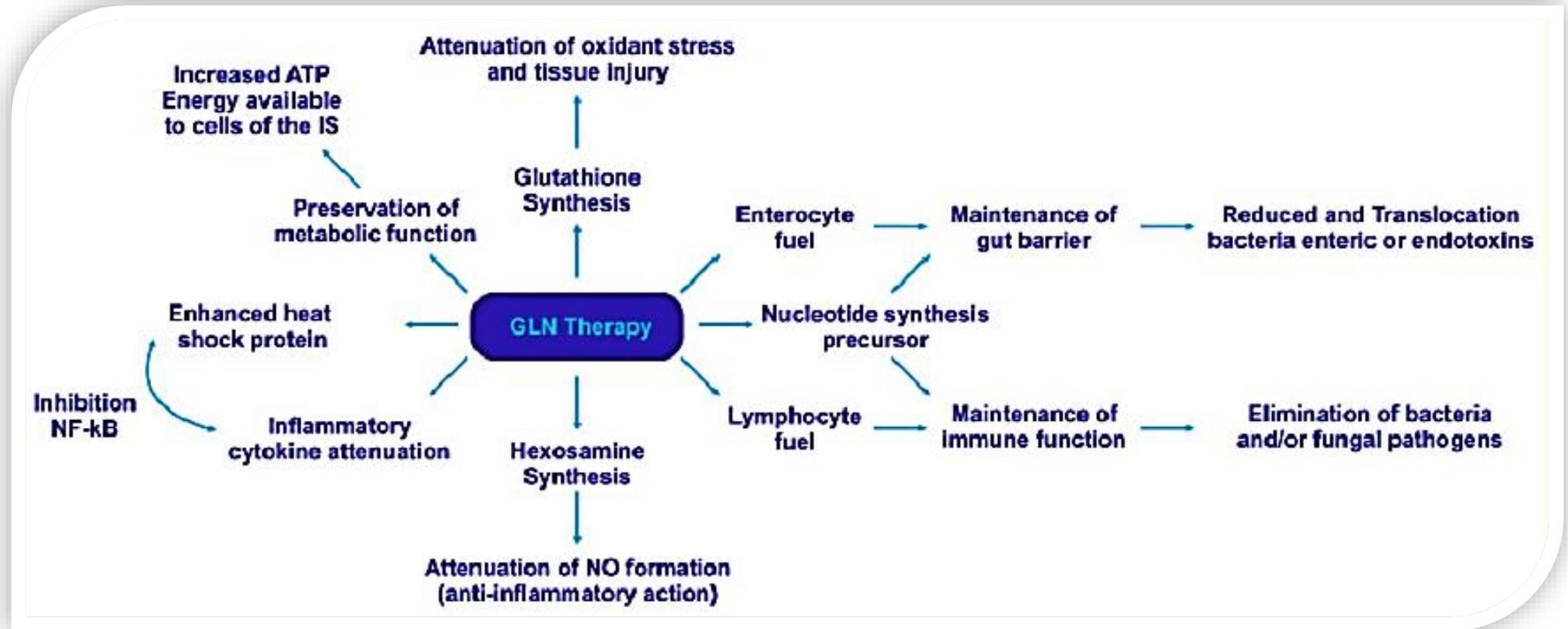
Item	14% CP	17%CP	20%CP
Initial weight (kg)	9.58	9.57	9.57
ADG (g)	370.2 <sup>c</sup>	446.6 <sup>b</sup>	505.4 <sup>a</sup>
ADFI (g)	691.5 <sup>b</sup>	766.8 <sup>ab</sup>	837.6 <sup>a</sup>
F:G	1.86 <sup>a</sup>	1.71 <sup>b</sup>	1.65 <sup>b</sup>
Final weight (kg)	26.21 <sup>c</sup>	29.64 <sup>b</sup>	32.23 <sup>a</sup>

Note: Within a row, means with a common superscript differ ( $P < 0.05$ ).

# Impactos de la Proteína dietaria sobre SI



# Mecanismo de Acción de Glutamina



# Salud **intestinal**

- ✓ La masa más grande de tejido linfoide (GALT)
- ✓ Millones de microbios residentes (microbiota)
- ✓ 150 veces más genes que el hospedero
- ✓ Digestión y absorción de nutrientes eficientemente
- ✓ Proveer un hogar para la microbiota residente:  
estómago  $10^8$ /g digesta (pH 3-4.5) → Colon  $10^{11}$  pH /g digesta (pH 6-6.5)
- ✓ Disponibilidad de nutrientes y Peristalsis
- ✓ Barrera: Pasaje de nutrientes, exclusión de patógenos, antígenos y toxinas

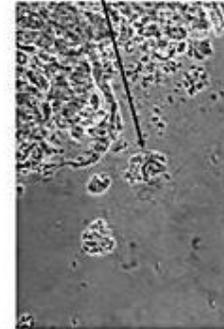


# Mejorando la salud intestinal a través de la nutrición

- ✓ Nutrición luminal
- ✓ Glutamina, ácido propiónico y ac butírico
- ✓ Vitamina E, A, Zinc
- ✓ Bloqueo de patógenos en el intestino (MOS-Anticuerpos)



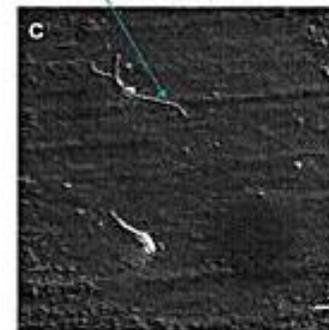
Brush border of an enterocyte loaded with E. coli bacteria



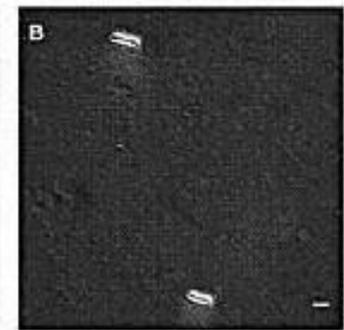
Brush border of an enterocyte blocked off by plasma, no E. coli bacteria adhere



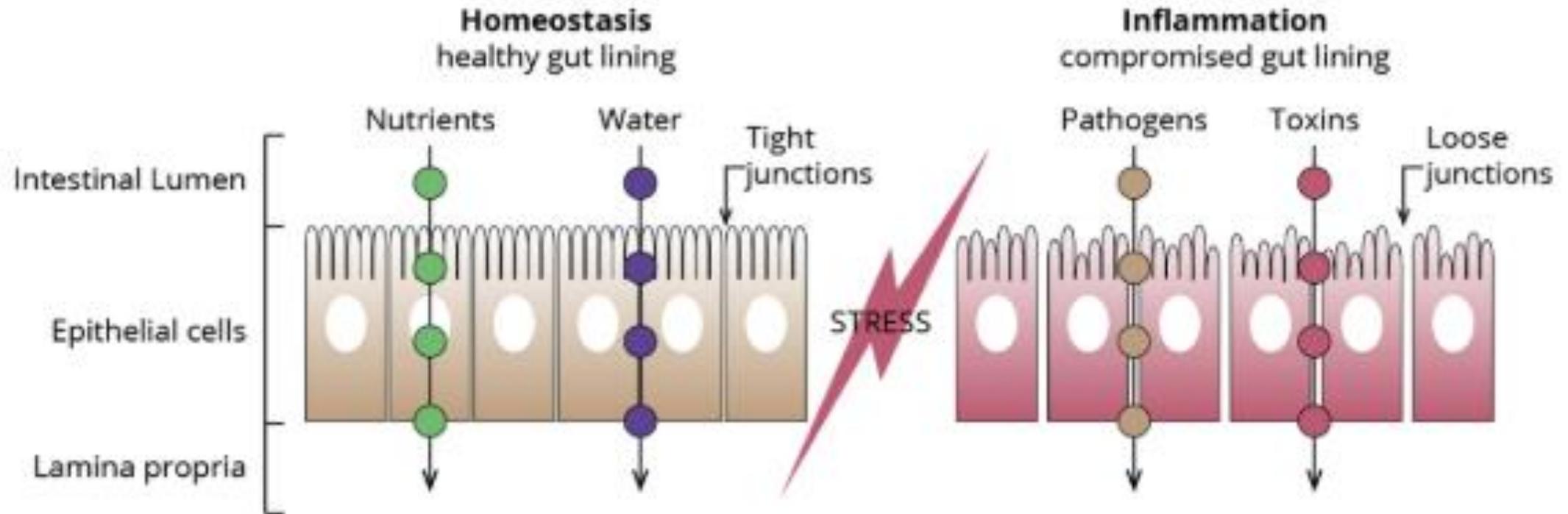
Normal E. coli cells with Flagella



E. coli cells treated with essential oils: flagella not formed



# Inflamación intestinal

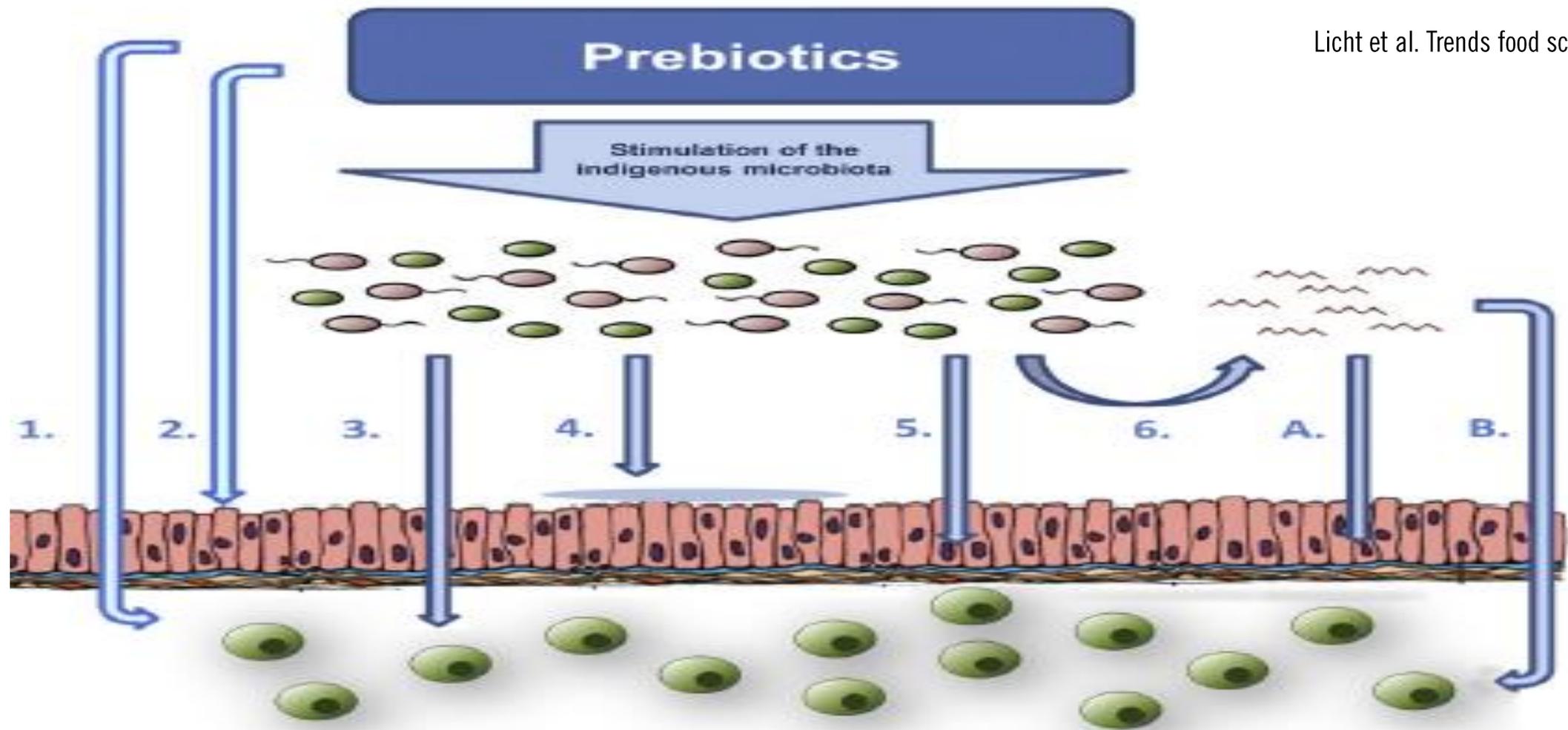


Inapetencia, catabolismo muscular, activación de sistema inmune  
↑ permeabilidad intestinal ↑ diarrea

# Carbohidratos fermentables (prebióticos)

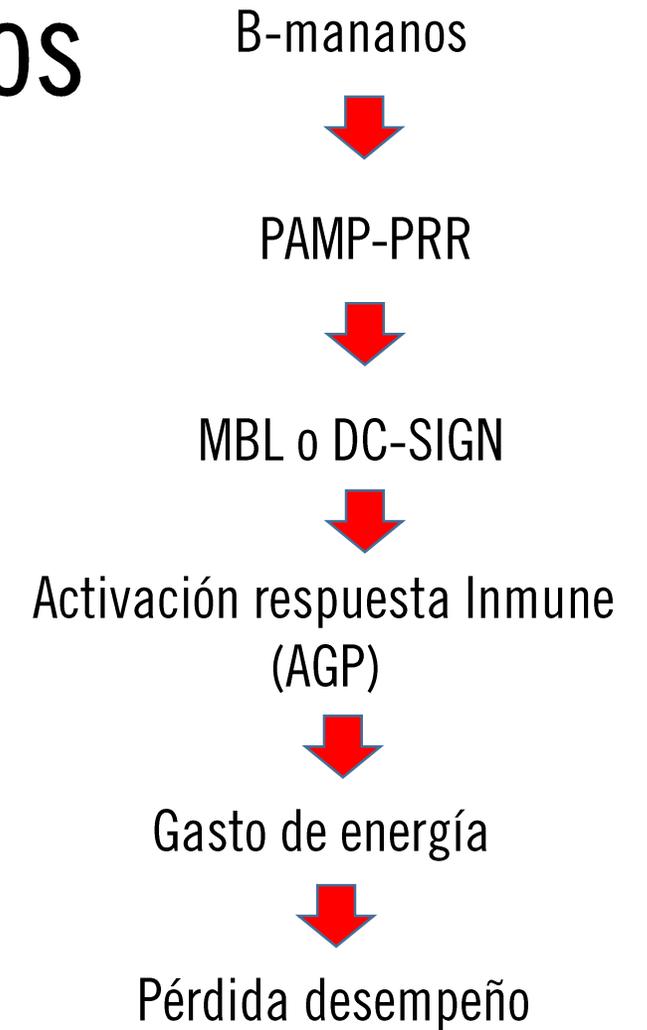
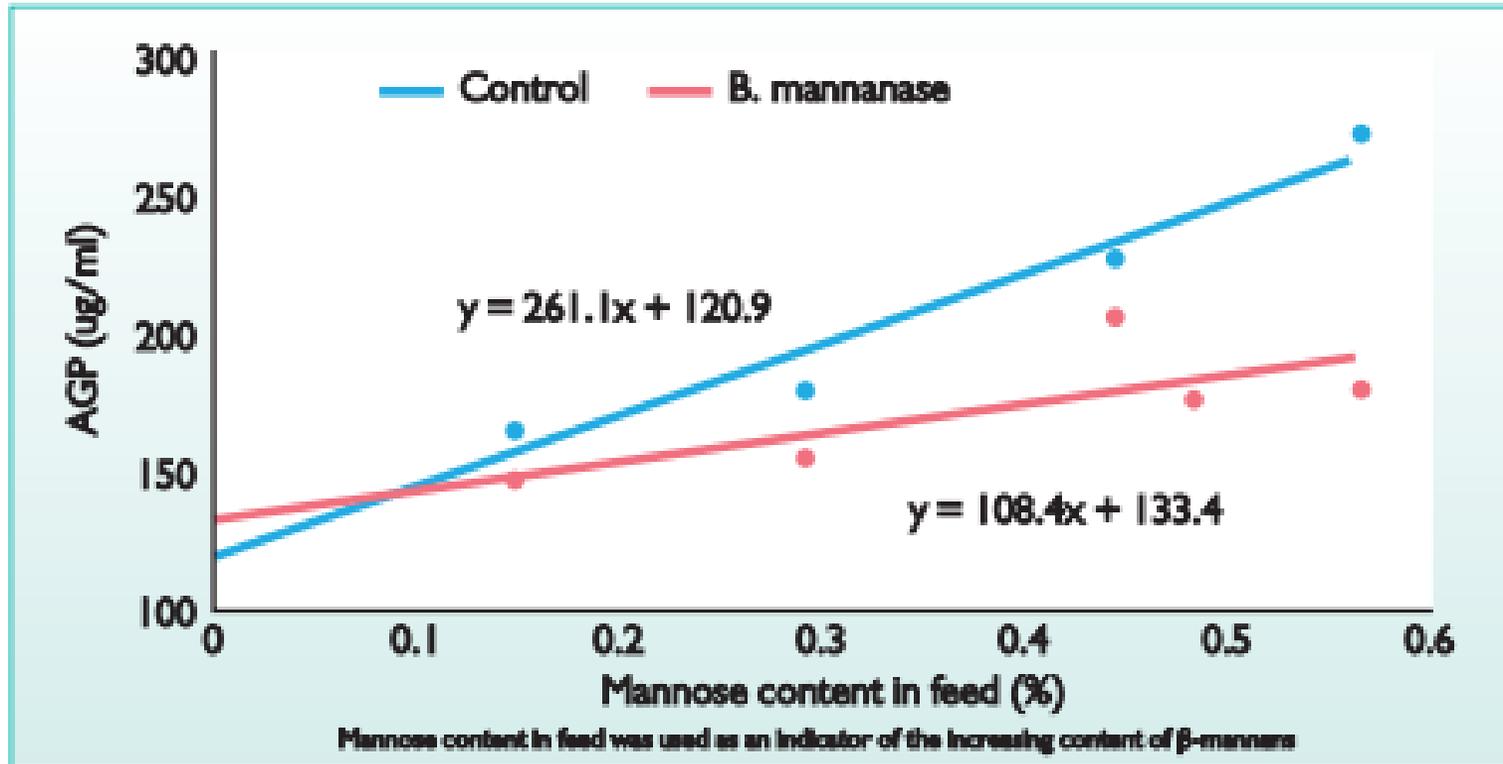
- ✓ Moduladores: fisiología intestinal, microbiología e inmunidad
- ✓ Oligosacáridos no digestibles
- ✓ Resistencia frente a colonización de patógenos
- ✓ Absorción de minerales
- ✓ ↓ lípidos séricos
- ✓ ↓ sustancias putrefactas
- ✓ Influencia poderosa en composición y actividad de microbiota GIT

Bauer et al, Fermentable carbohydrates: potential dietary modulators of intestinal physiology, microbiology and immunity in pigs. In: Biology of growing animals, 2006.



1. Stimulation of the immune cells directly by prebiotics
2. Irritation of the epithelial cells directly by the prebiotics
3. Stimulation of the immune cells by the indigenous microbiota
4. Stimulation of mucin production by the indigenous microbiota
5. Stimulation of tight junction genes/proteins by the indigenous microbiota
6. Stimulation of SCFA production leading to:
  - A. Regulation of tight junction formation and stimulation of growth and differentiation of epithelial cells
  - B. Regulation of pro-inflammatory cells

# Alimentos como Antígenos

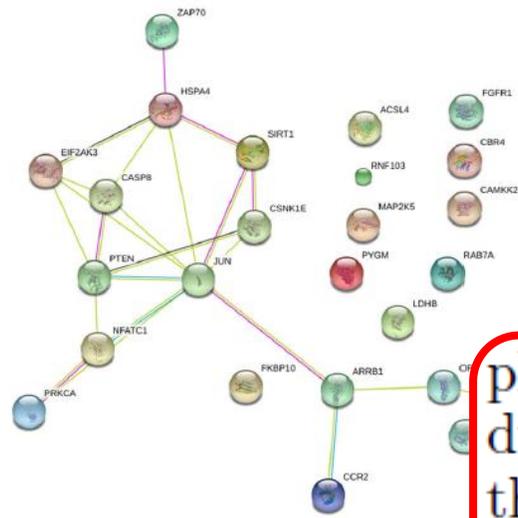


## **Changes in immune and metabolic gut response in broilers fed $\beta$ -mannanase in $\beta$ -mannan-containing diets**

R. J. Arsenault,<sup>\*,1</sup> J. T. Lee,<sup>†</sup> R. Latham,<sup>†</sup> B. Carter,<sup>‡</sup> and M. H. Kogut<sup>§</sup>

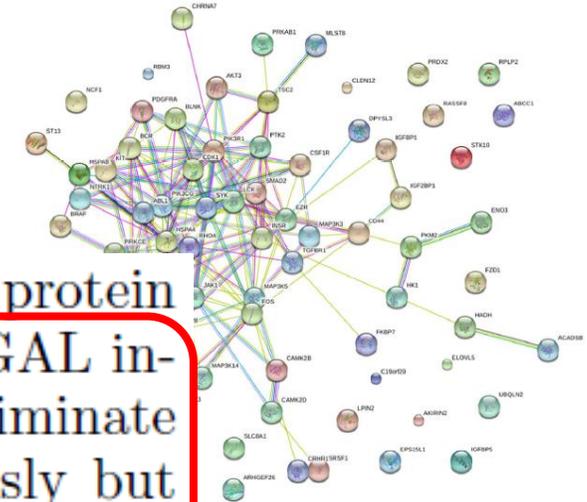
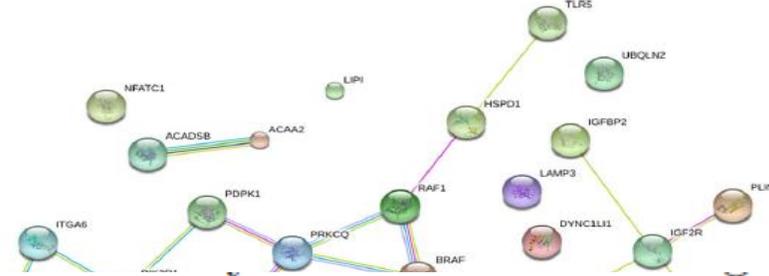
*\*Department of Animal and Food Sciences, University of Delaware, Newark, DE; †Poultry Science Department, Texas A&M University, College Station, TX; ‡Elanco Animal Health, Greenfield, IN; and §Southern Plains Agricultural Research Center, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, College Station, TX*

# Péptidos únicamente alterados por la b-mananasa



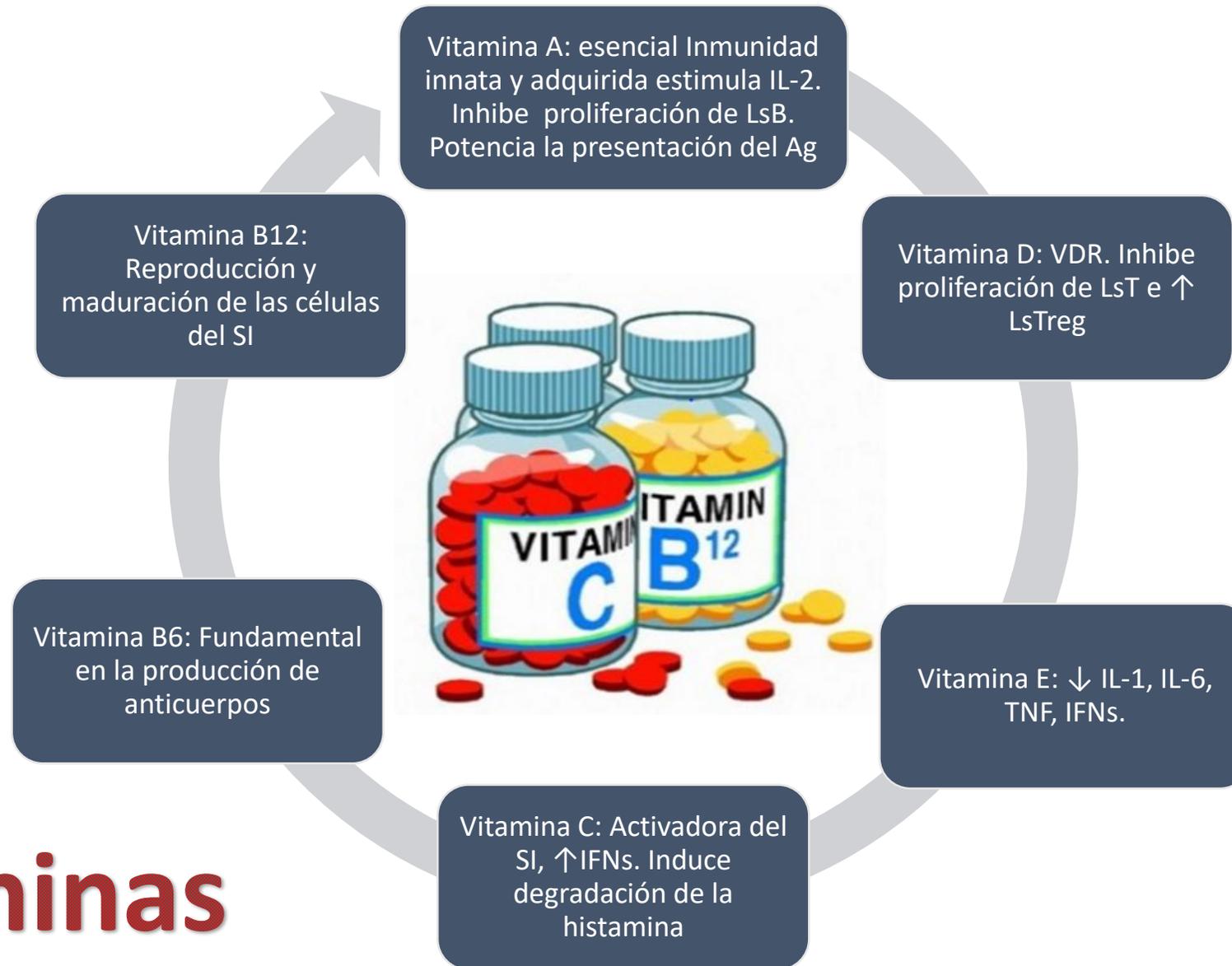
Día 14

This study has shown biologically relevant protein phosphorylation signal data confirming that  $\beta$ GAL induced a FIIR and that  $\beta$ -mannanase can eliminate that response, as has been postulated previously but not shown experimentally to date. In addition,  $\beta$ -mannanase has separate metabolic consequences besides the reduction in FIIR.  $\beta$ -mannanase may have positive effects in a diet formulation containing  $\beta$ GAL, as the kinotype of birds fed control diets containing  $\beta$ -mannanase is similar to those also fed  $\beta$ GAL and  $\beta$ -mannanase. Peptides are differentially phosphorylated



42

# Vitaminas



# Minerales

**Cromo:** Regulador de la glucosa. Importante en respuesta inmune contra infecciones

- **Manganeso:** ↑↑ función NKs y Macrófagos

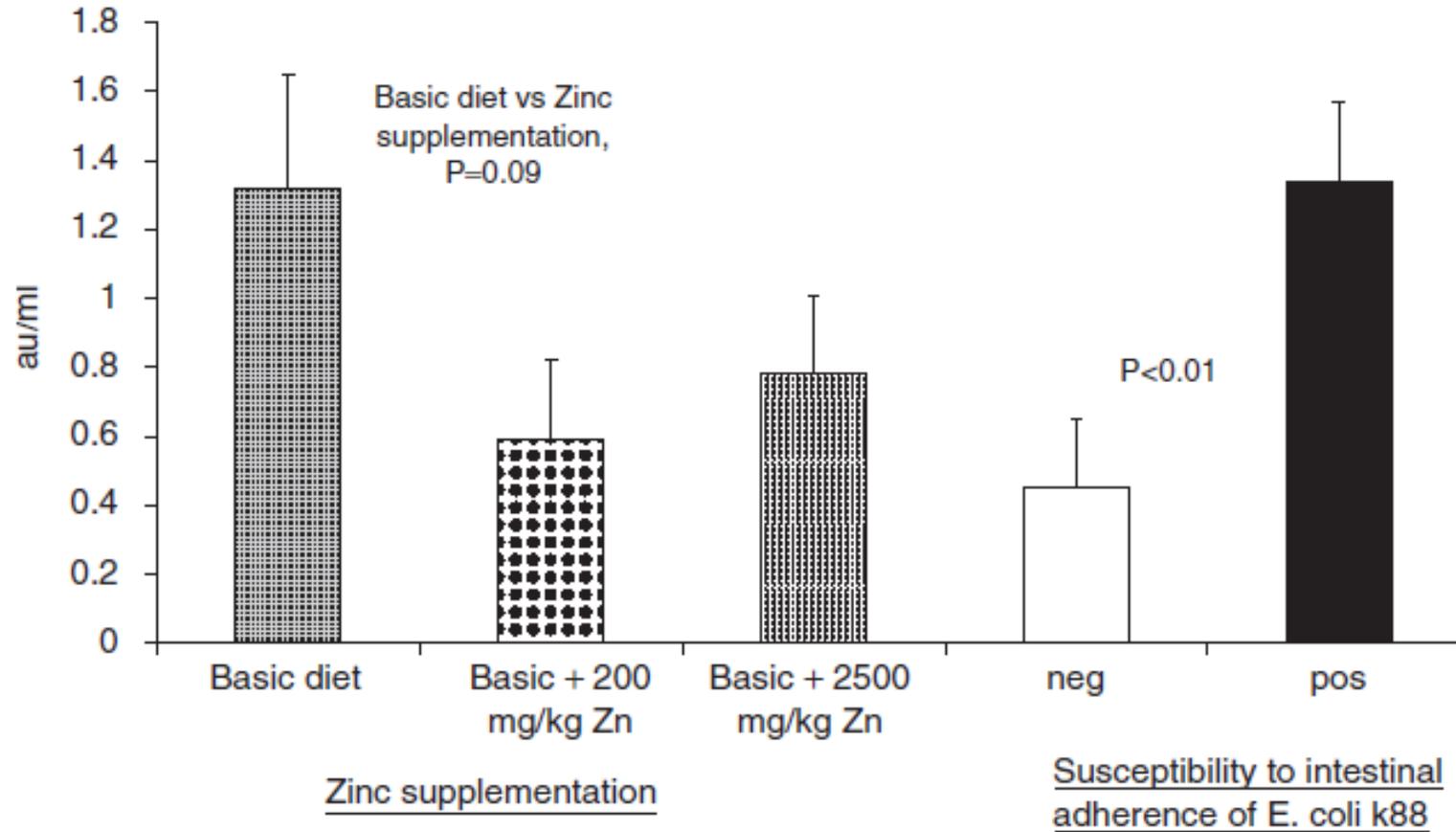
**Selenio:** Fundamental en la respuesta contra HIV

- Adherencia, migración, fagocitosis, secreción de citoquinas, potenciación de sinapsis inmunológica

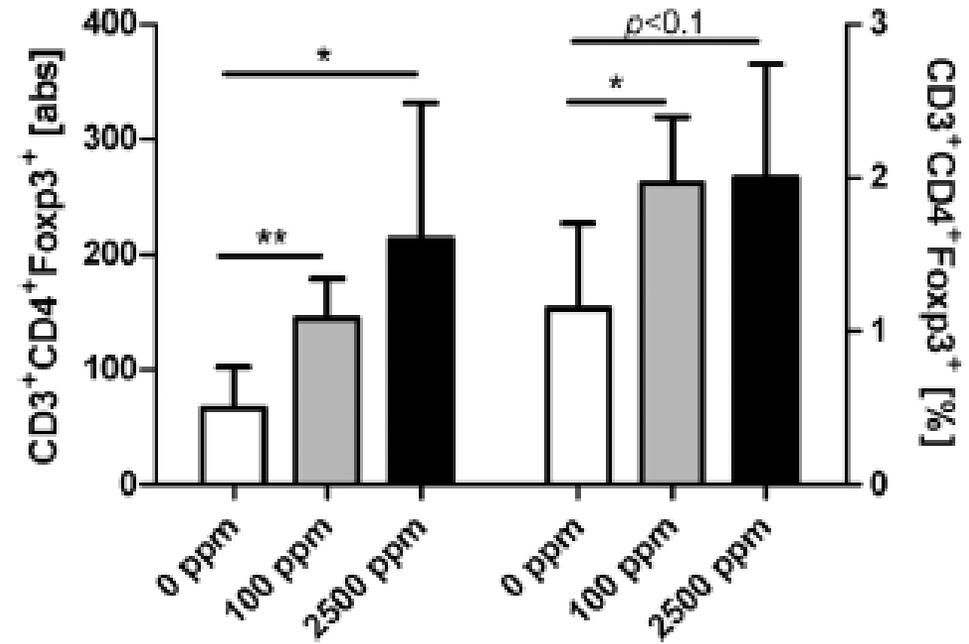
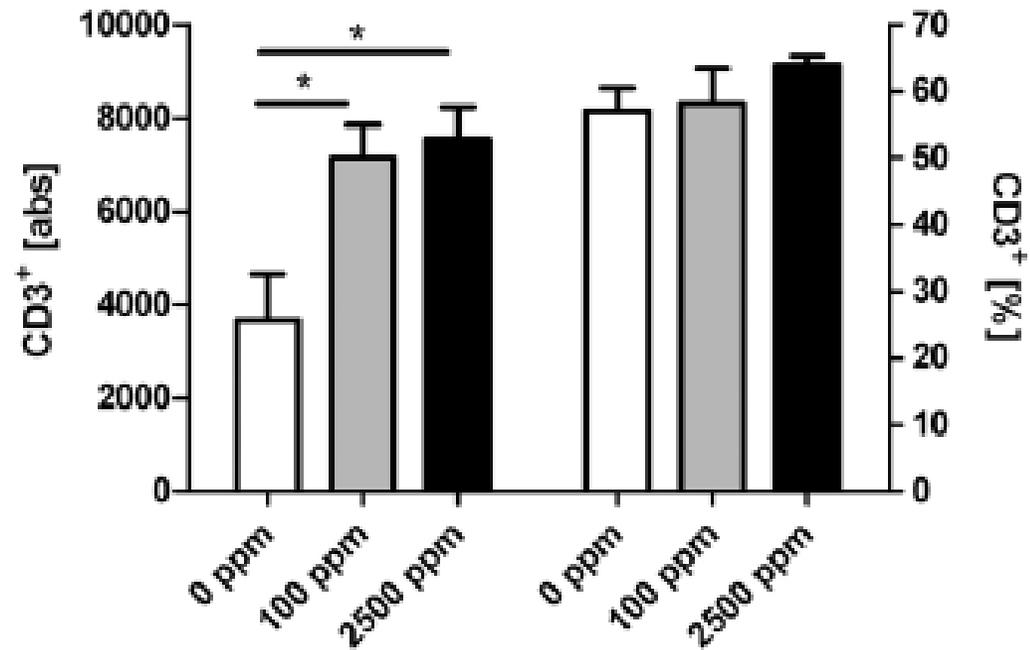
**Zinc:** Linfopoyesis, desarrollo del timo, protector de epitelio

- **Hierro:** División celular de Ls, reacciones de óxido-reducción. Su deficiencia está asociado con ↑↑ susceptibilidad a infección

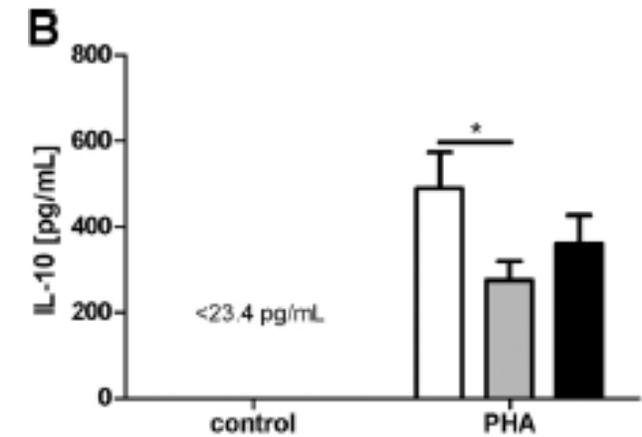
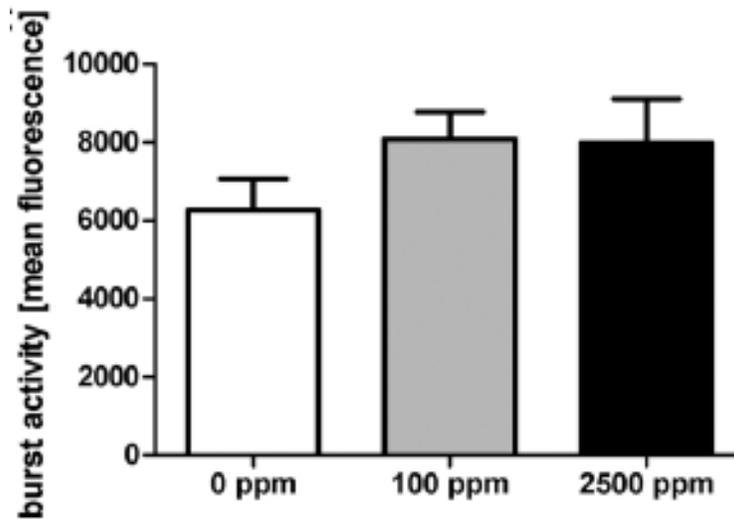
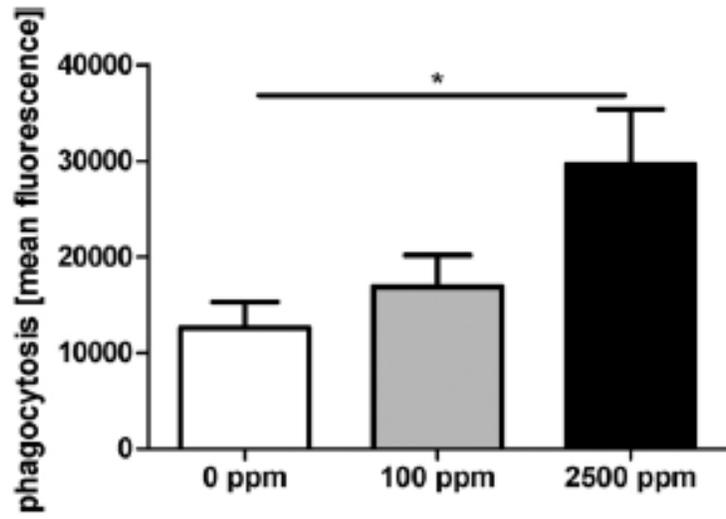
# Efectos del Zn en la adherencia intestinal de E.coli K88 en lechones destetos



# Suplementación de Zn durante 14 días en lechones destetos



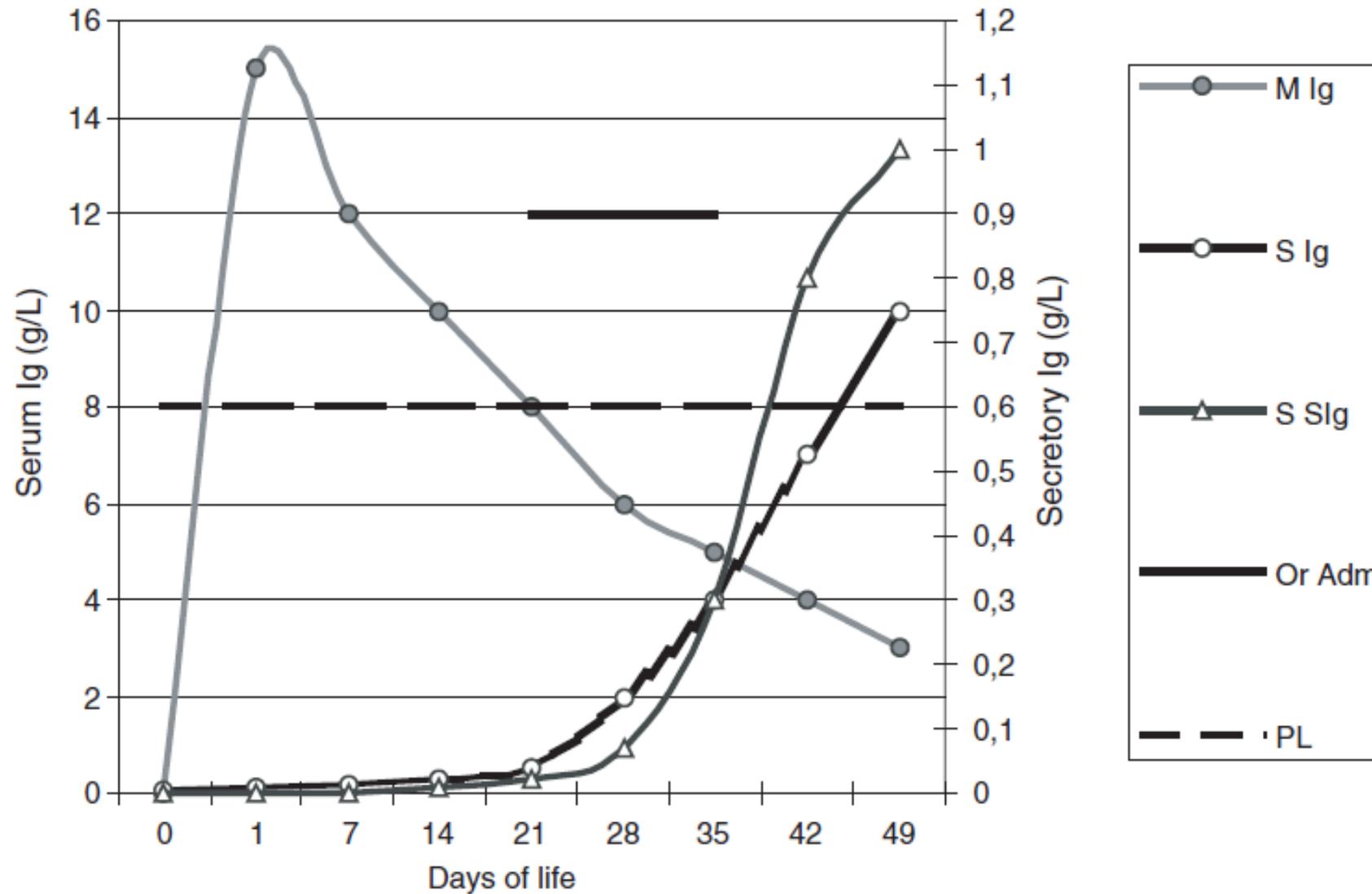
# Suplementación de Zn durante 14 días en lechones destetos



# Suplementación con anticuerpos

- ✓ 20-40% sufren de FPT (bovinos, porcinos, equinos)
- ✓ Susceptibilidad primeras semanas de vida
- ✓ Uso de antibióticos
- ✓ ↑ de diarreas por cepas resistentes
- ✓ Alternativa: Administración oral de Ig (primeros días de vida y post-destete)
- ✓ Profilácticos y terapéuticos

# Suplementación con anticuerpos profiláctico



Stefaniak. Control of Intestinal diseases by dietary supplementation with antibodies  
. In: Biology of Nutrition in Growing Animals, 2006

# Otros componentes del calostro

✓ Lactoferrina

✓ Lactoperoxidasa

✓ Células epiteliales

✓ Lisozima

✓ Citoquinas



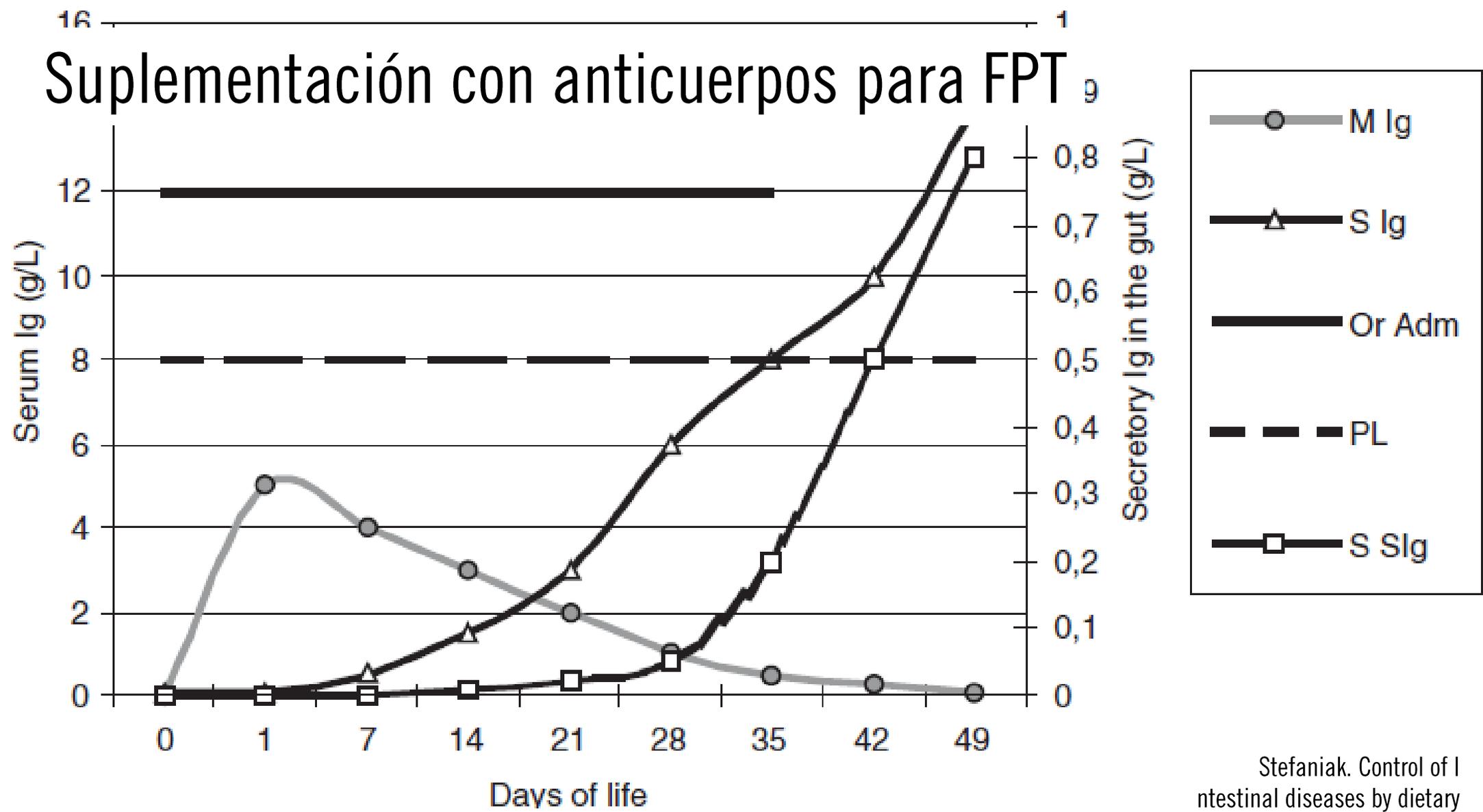
✓ Fagocitos (macrófagos y neutrófilos)



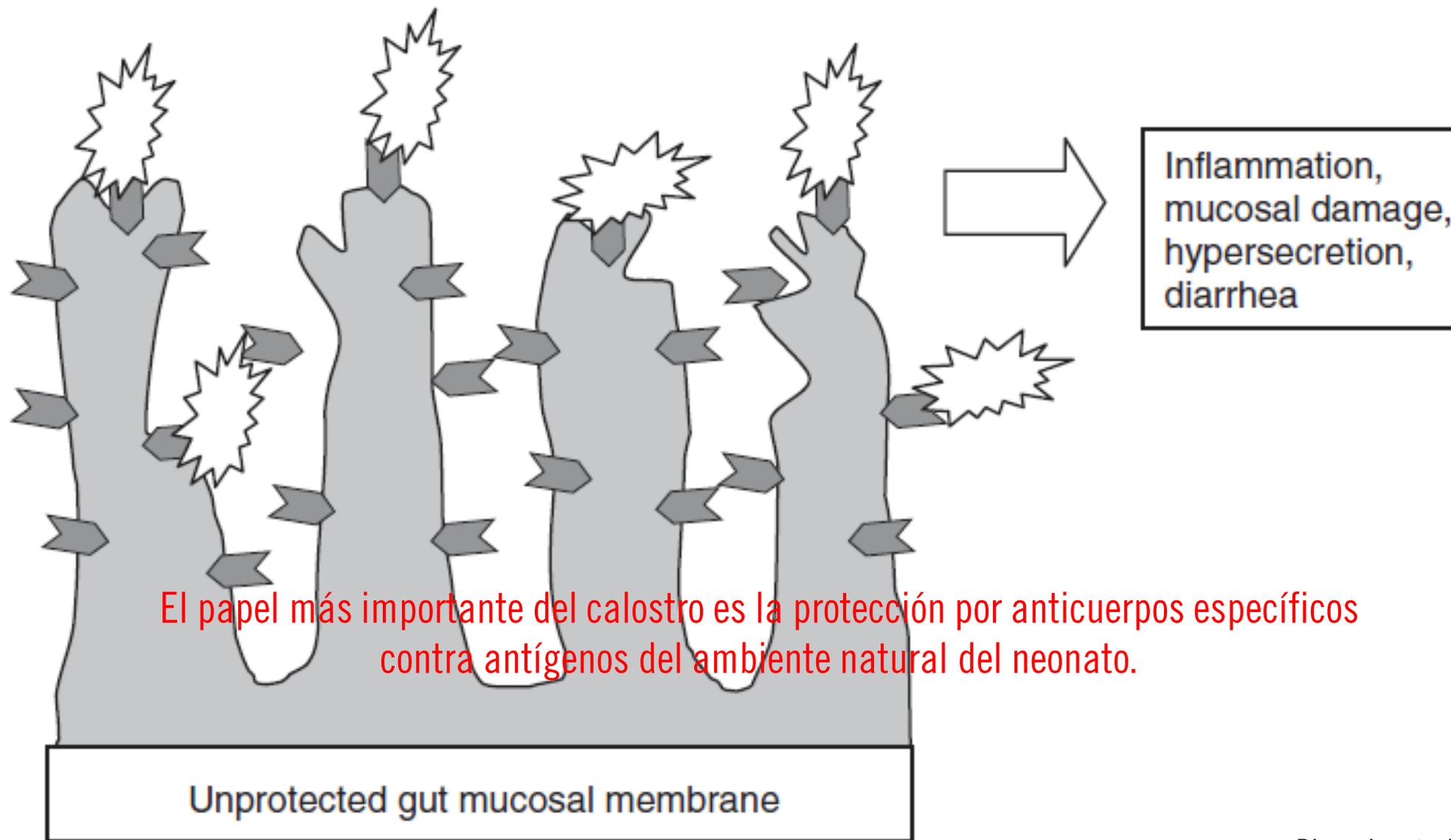
✓ Linfocitos B y T

Solomon Eur J Clin Nutr 2002  
Wagstrom et al., Viral Immunol, 2000

# Suplementación con anticuerpos para FPT



Stefaniak. Control of intestinal diseases by dietary supplementation with antibodies  
 . In: Biology of Nutrition in Growing Animals, 2006



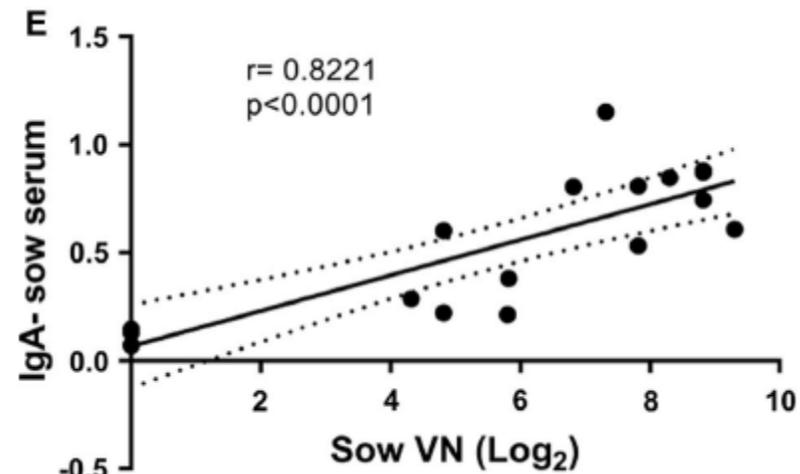
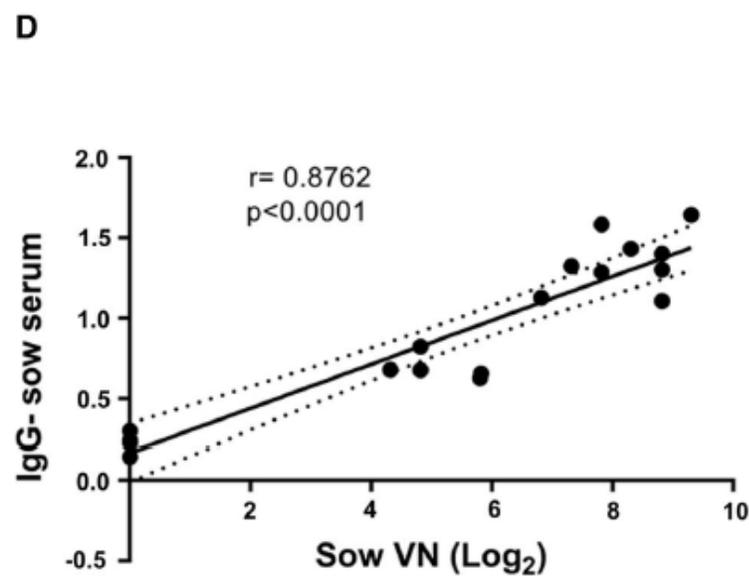
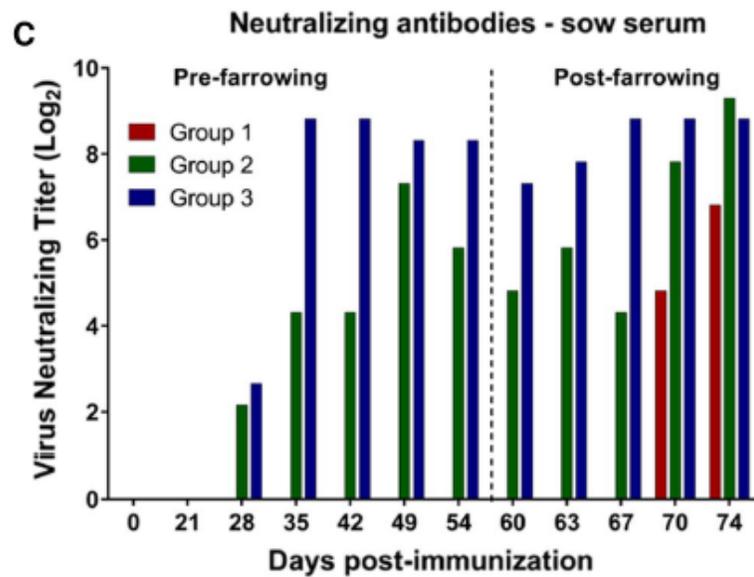
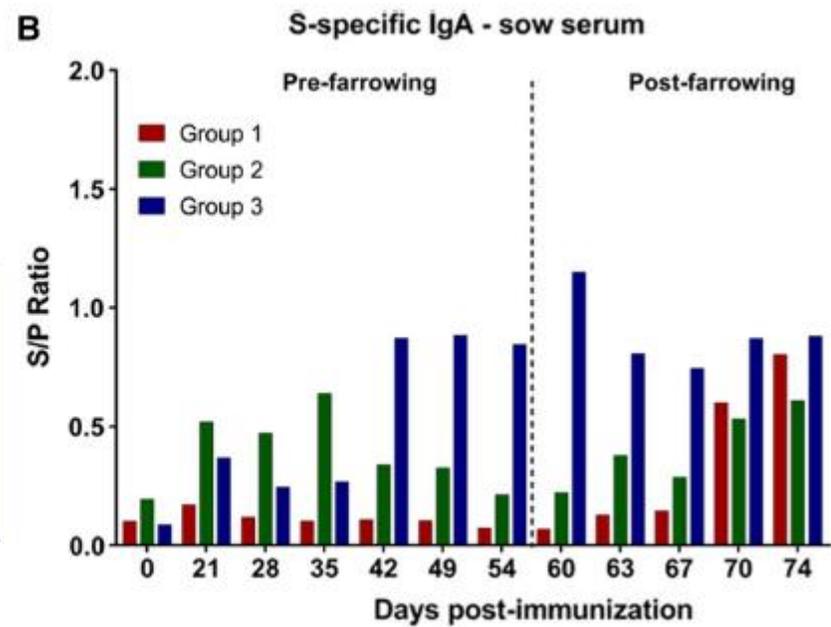
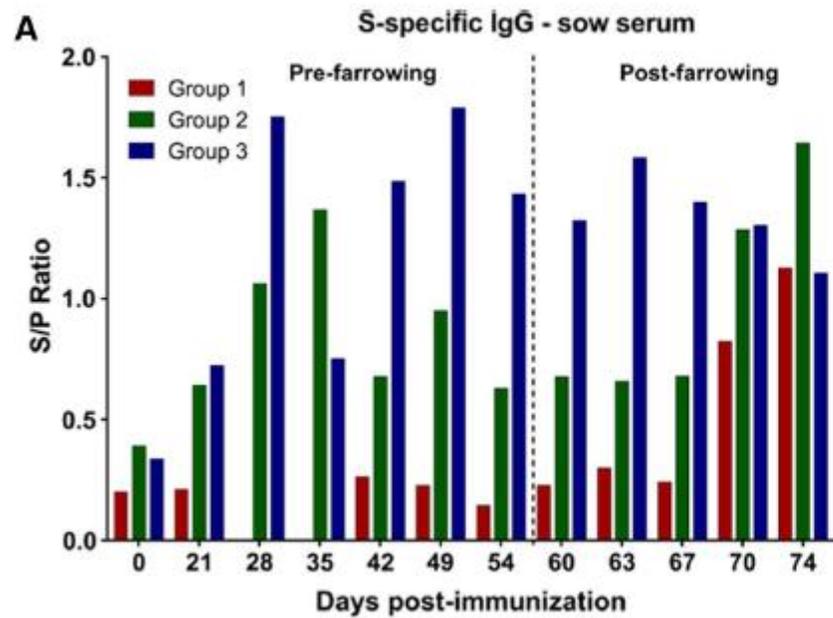
Pisarska et al. Pol J Vet Sci, 2002  
Stefaniak. Control of Intestinal diseases by dietary  
supplementation with antibodies  
. In: Biology of Nutrition  
in Growing Animals, 2006



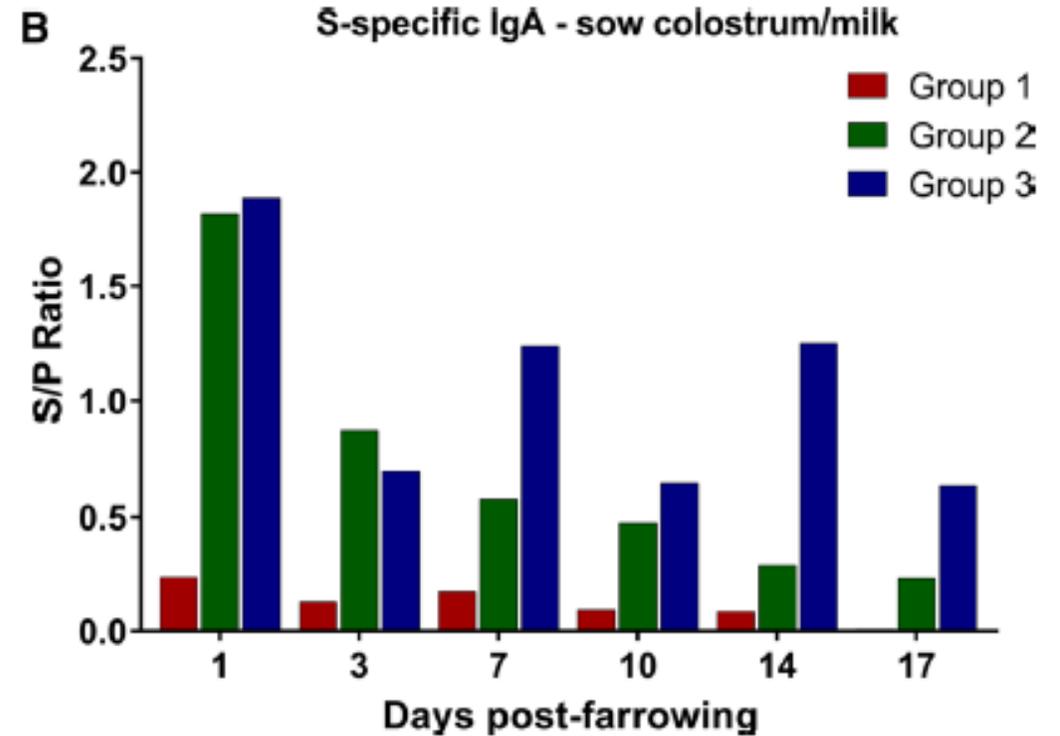
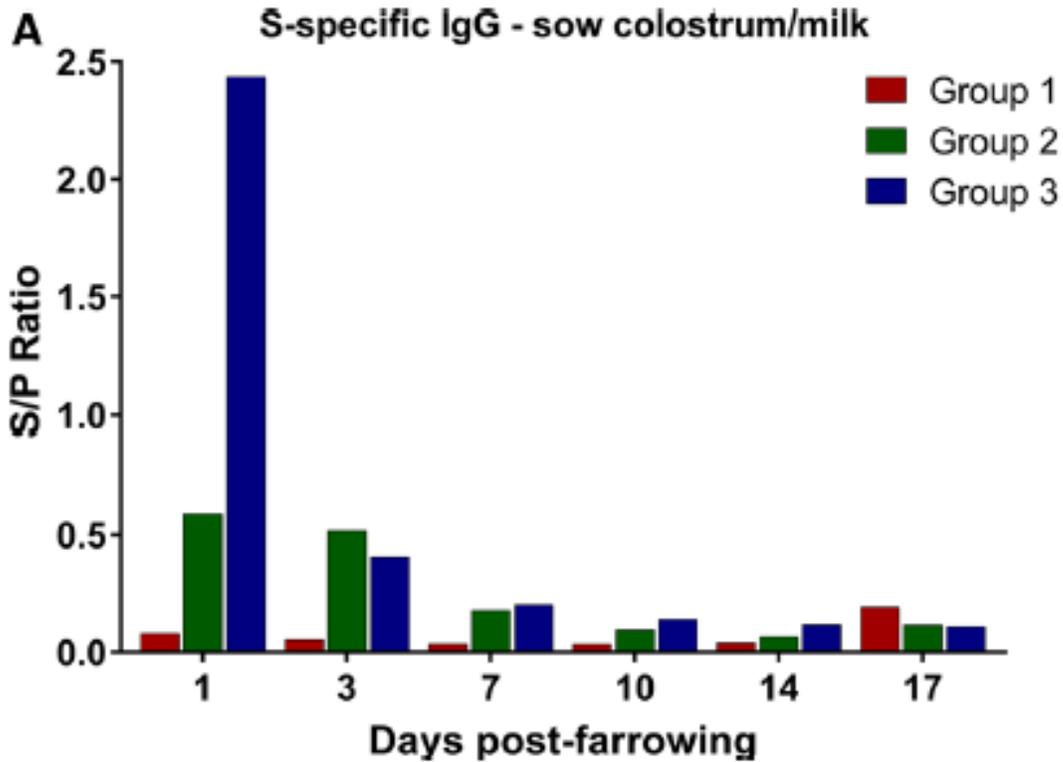
## Passive immunity to porcine epidemic diarrhea virus following immunization of pregnant gilts with a recombinant orf virus vector expressing the spike protein

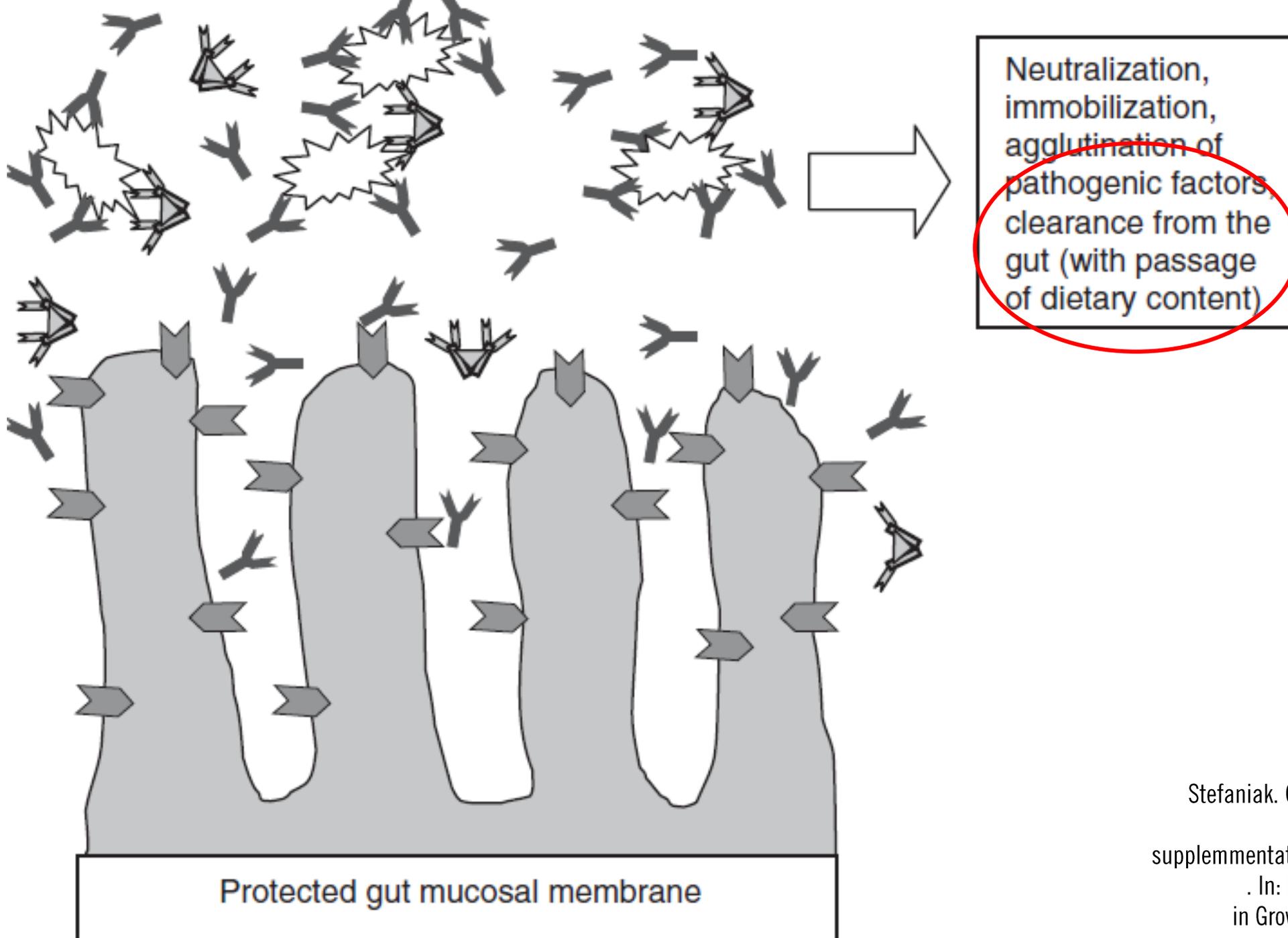
Lok R. Joshi<sup>1,2</sup> · Faten A. Okda<sup>1</sup> · Aaron Singrey<sup>1,2</sup> · Mayara F. Maggioli<sup>1,2</sup> · Tatiane C. Faccin<sup>3,1</sup> · Maureen H. V. Fernandes<sup>1,2</sup> · Kyle S. Hain<sup>1</sup> · Scott Dee<sup>4</sup> · Fernando V. Bauermann<sup>1,2</sup> · Eric A. Nelson<sup>1,2</sup> · Diego G. Diel<sup>1,2</sup> 

Group (n)	Treatment	Day of immunization (route)	Dose TCID <sub>50</sub>	No of piglets
Group 1 (G1) (n=2)	Control (MEM)	0, 21, 42 (IM)	$2 \times 10^{7.38}$	24
Group 2 (G2) (n=2)	ORFV-PEDV-S	0, 21, 42 (IM)	$2 \times 10^{7.38}$	24
Group 3 (G3) (n=2)	ORFV-PEDV-S Live PEDV	0, 21, 42 (IM) 31 (oral)	$2 \times 10^{7.38}$ $1 \times 10^5$	24



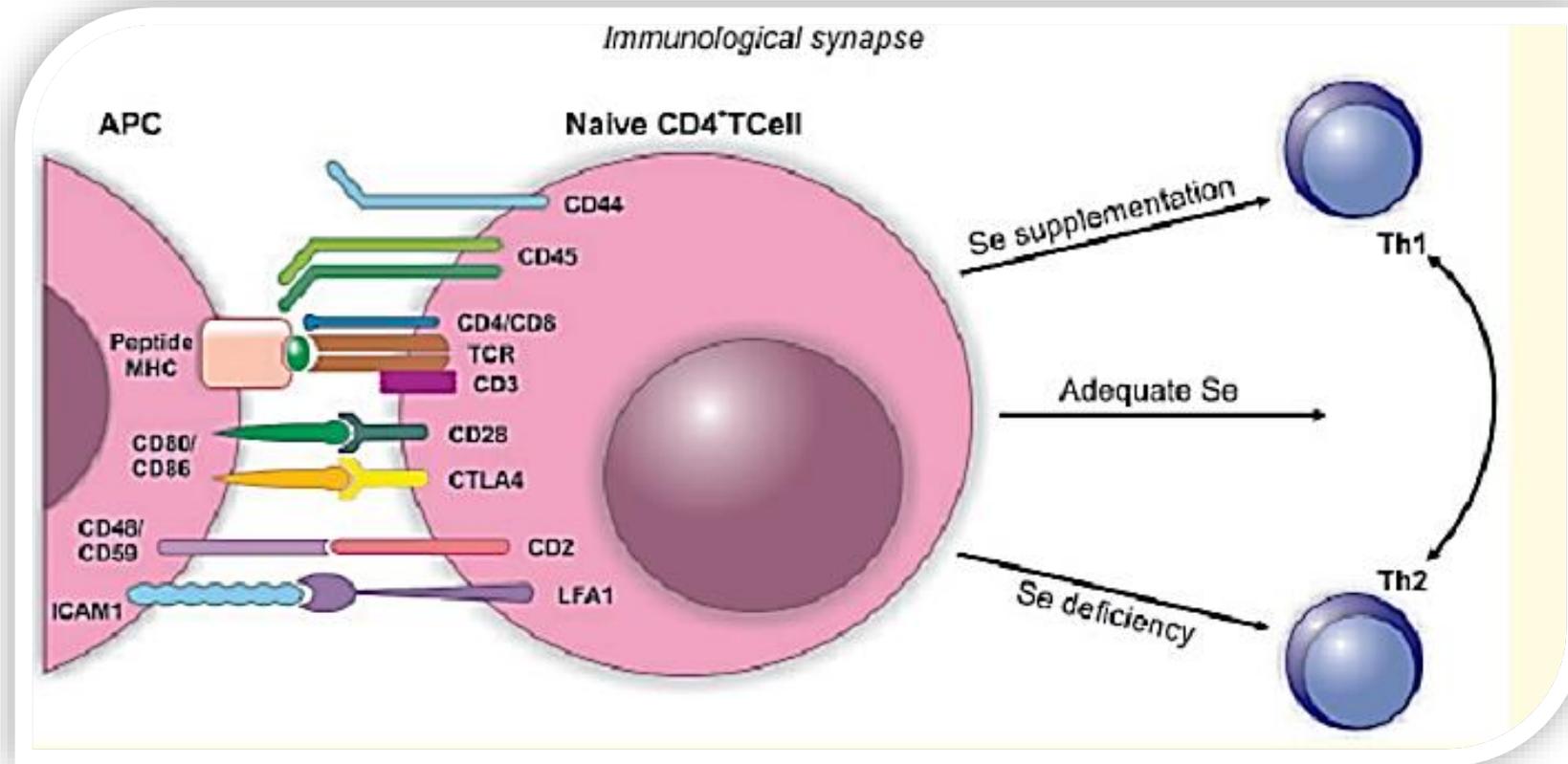
# Detección específica de Ig en calostro contra Ag del PEDv



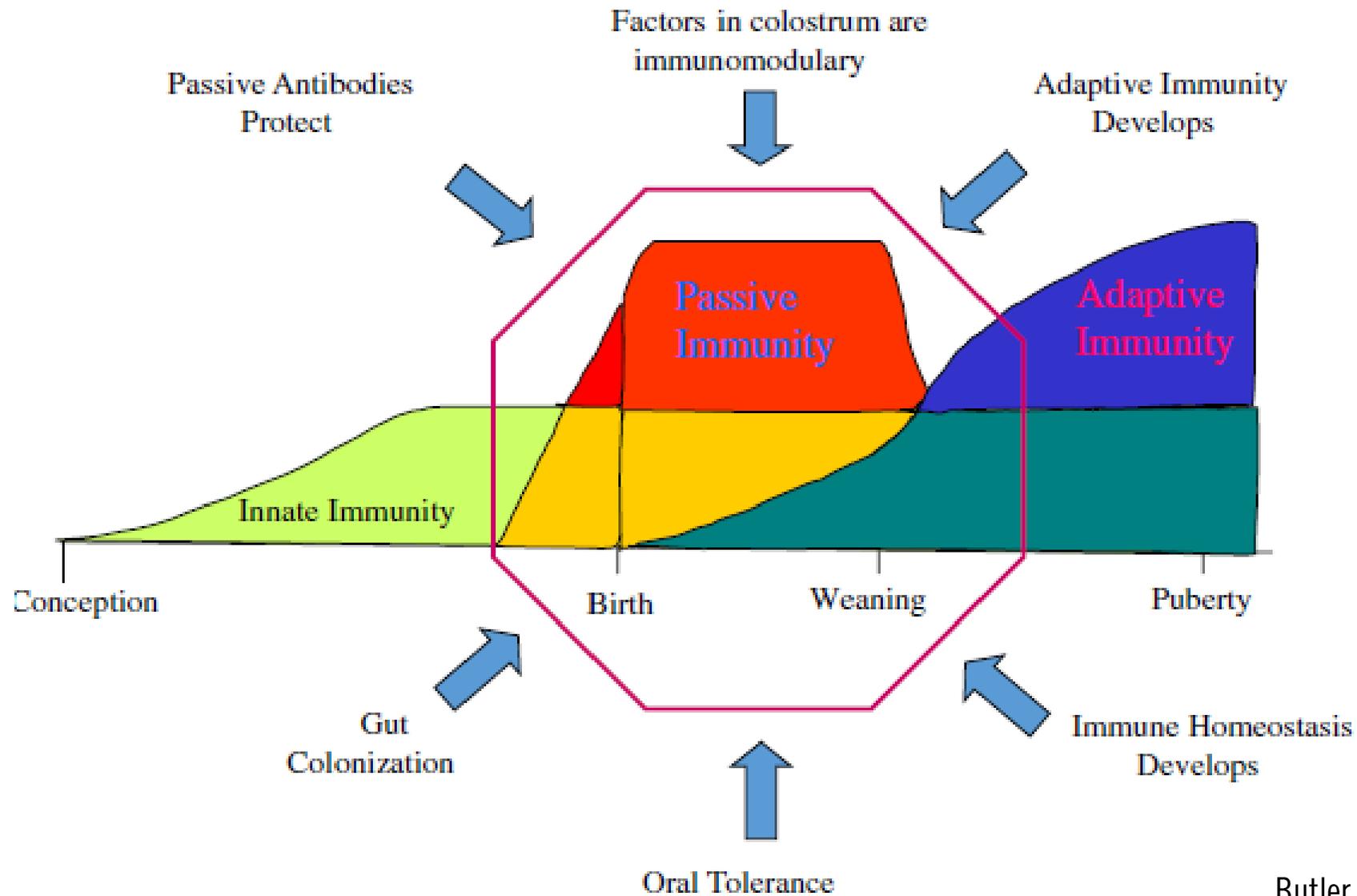


Stefaniak. Control of Intestinal  
diseases by dietary  
supplementation with antibodies  
. In: Biology of Nutrition  
in Growing Animals, 2006

# Efecto del Selenio Sobre la Sinapsis Inmunológica



# Ventana crítica del Desarrollo Inmunológico



# Resumen de algunos nutrientes sobre el sistema inmune

Nutriente	Alimenta Sistema Inmune	Efecto en el patógeno	Inmunomodulación
Lisina	✓		
Folato	✓		
Hierro	✓	✓	
Vitamina E	✓	✓	✓
AGPI			✓



# Fecal Microbiota Transplantation Is Associated With Reduced Morbidity and Mortality in Porcine Circovirus Associated Disease

*Megan C. Niederwerder<sup>1\*</sup>, Laura A. Constance<sup>1</sup>, Raymond R. R. Rowland<sup>1</sup>, Waseem Abbas<sup>2</sup>, Samodha C. Fernando<sup>2</sup>, Megan L. Potter<sup>3</sup>, Maureen A. Sheahan<sup>1</sup>, Thomas E. Burkey<sup>2</sup>, Richard A. Hesse<sup>1,4</sup> and Ada G. Cino-Ozuna<sup>1,4</sup>*

**TABLE 1** | Microorganisms detected in the fecal microbiota transplant material by the pan-microbial detection array.\*

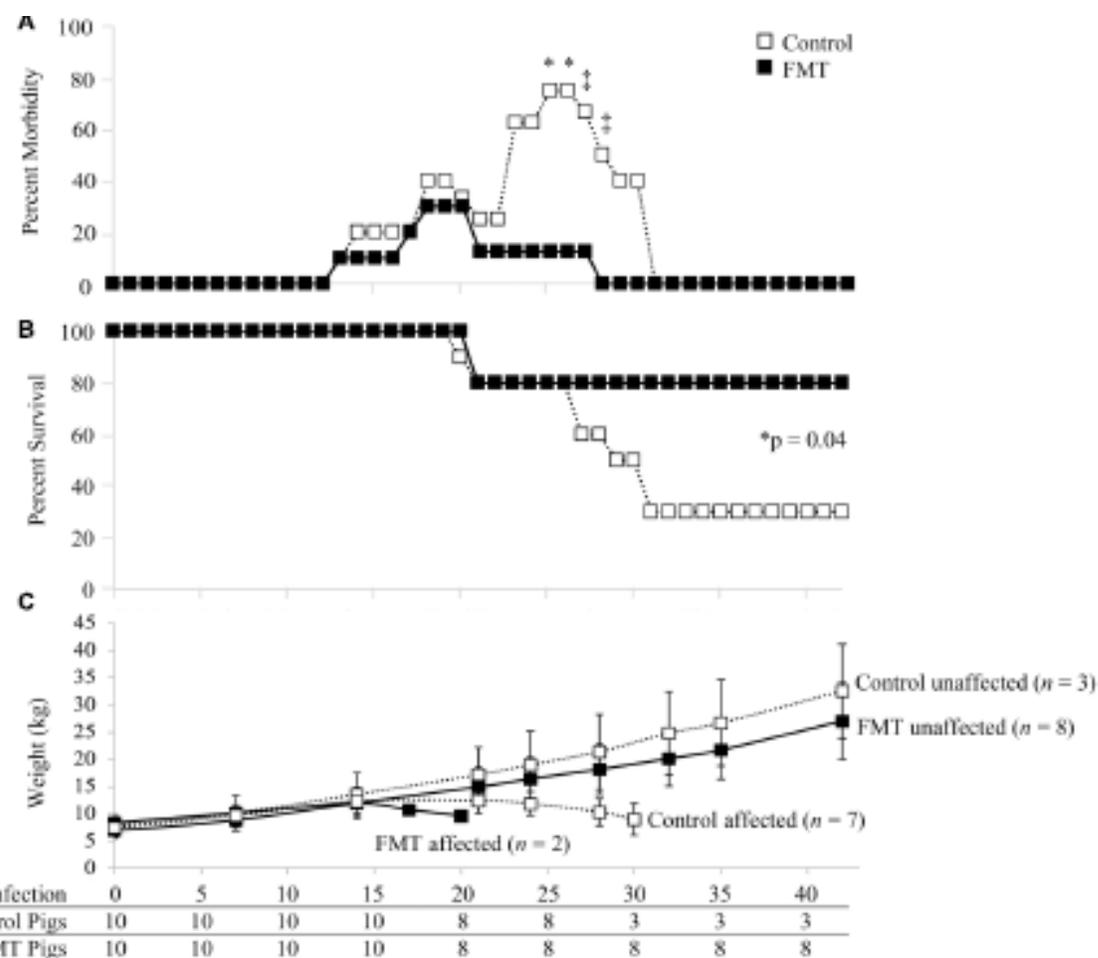
Phylum <sup>†</sup>	Family	Genus species	
Actinobacteria	Bogoriellaceae	<i>Georgenia</i> sp.	
	Nocardiaceae	<i>Rhodococcus rhodii</i>	
Amoebozoa	Entamoebidae	<i>Entamoeba ruffali</i>	
Bacteroidetes	Bacteroidaceae	<i>Bacteroides graminisolvens</i> , <i>Bacteroidetes bacterium</i>	
	Cyclobacteriaceae	<i>Algoriphagus maritcola</i>	
	Prevotellaceae	<i>Prevotella</i> sp.	
	Rikenellaceae	<i>Rikenella microtus</i>	
Basidiomycota	Ceratobasidiaceae	<i>Rhizoctonia solani</i>	
Euryarchaeota	Methanobacteriaceae	<i>Methanobrevibacter oralis</i> , <i>Methanobrevibacter smithii</i>	
Firmicutes	Camobacteriaceae	<i>Alkalibacterium</i> sp.	
	Clostridiaceae	Candidatus <i>Clostridium anorexicamassiliense</i> , <i>Clostridiaceae bacterium</i> , <i>Clostridium</i> sp.	
	Clostridiales	<i>Clostridiales bacterium</i>	
	Lachnospiraceae	<i>Lachnospiraceae bacterium</i>	
	Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus amylovorus</i>	
	Peptostreptococcaceae	<i>Clostridium bifermens</i> , <i>Clostridium manganotii</i>	
	Fusobacteria	Fusobacteriaceae	<i>Psychriyobacter atlanticus</i>
	Proteobacteria	Anaplasmataceae	Candidatus <i>Xenolissocilium pacificensis</i>
		Bradyrhizobaceae	<i>Bosea</i> sp., <i>Bradyrhizobium</i> sp.
		Campylobacteraceae	<i>Campylobacter</i> sp., <i>Sulfurospirillum arcachonense</i>
Desulfovibrionaceae		<i>Desulfovibrio alkalitolerans</i>	
Helicobacteraceae		<i>Helicobacter pametensis</i>	
Legionellaceae		<i>Legionella lansingensis</i>	
Rhizobiaceae		<i>Thiomicrospira kuenenii</i> , <i>Thiomicrospira</i> sp.	
Pseudomonadaceae		<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Rhizobacter</i> sp.	
Sphingomonadaceae		<i>Sphingomonas</i> sp.	
Vibrionaceae		Candidatus <i>Photodesmus katoptron</i>	
Xanthomonadaceae	<i>Ignatzschineria larvae</i> , <i>Xanthomonadaceae bacterium</i>		
Spirochaetes	Spirochaetaceae	<i>Borrelia parkeri</i> , <i>Spirochaeta</i> sp., <i>Treponema pedis</i> , <i>Treponema</i> sp.	
Synergistetes	Synergistaceae	<i>Aminiphilus circumscriptus</i>	
Tenericutes	Acholeplasmataceae	<i>Acholeplasma equifetale</i> , <i>Acholeplasma granularum</i>	
	Mycoplasmales	<i>Mycoplasma conjunctivae</i> , <i>Mycoplasma fermentans</i> , <i>Mycoplasma lowae</i>	
	Spiroplasmataceae	<i>Spiroplasma apis</i>	
Virus	Circoviridae	Fur seal feces-associated circular DNA virus	

\*Only those microbes identified at the phylum, family, and genus level are included. <sup>†</sup>Organized alphabetically by phylum; order listed when family unidentifiable.

**TABLE 2 |** Effect of FMT on weight gain prior to co-infection.\*

Weight on arrival (-8 dpi)		Weight after 7 days of FMT (0 dpi)	
Control	FMT	Control	FMT
4.73	5.41	5.09	5.32
5.05	5.59	5.23	5.77
5.82	5.82	5.86	6.05
6.77	5.91	7.50	6.23
7.27	6.14	7.91	6.64
7.36	8.23	8.23	8.27
7.64	8.23	8.41	8.45
8.27	8.32	8.59	8.45
8.73	8.45	9.59	8.68
8.91	8.64	9.64	8.95
Mean: 7.05	Mean: 7.07	Mean: 7.60	Mean: 7.28
SD: 1.46	SD: 1.39	SD: 1.67	SD: 1.40
$p = 0.99$		$p = 0.85$	

\*Data are shown in kilograms. Statistics performed by unpaired t-tests using repeated measures analysis.



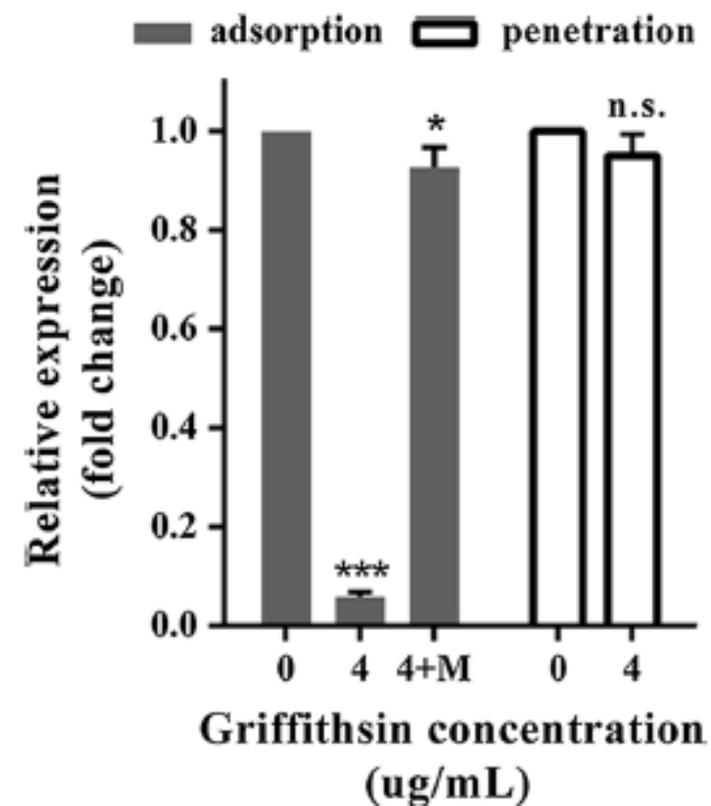


# Griffithsin inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection *in vitro*

Lan Li<sup>1</sup> · Xiaoning Tian<sup>2</sup> · Jin Chen<sup>1</sup> · Pengcheng Li<sup>1</sup> · Qisheng Zheng<sup>1</sup> · Jibo Hou<sup>1,3</sup>

Received: 18 May 2018 / Accepted: 1 August 2018

© Springer-Verlag GmbH Austria, part of Springer Nature 2018



# Preguntas???

[lgomezosorio@gmail.com](mailto:lgomezosorio@gmail.com)

[lgomezo@ces.edu.co](mailto:lgomezo@ces.edu.co)



Gracias!!!

# Impacto de la Respuesta Inflamatoria en el Proceso de Producción



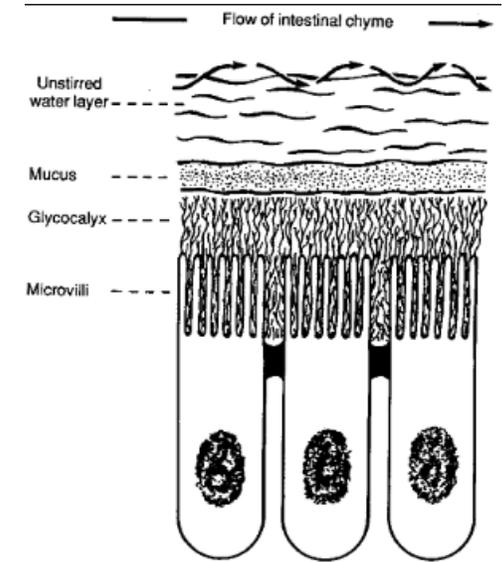
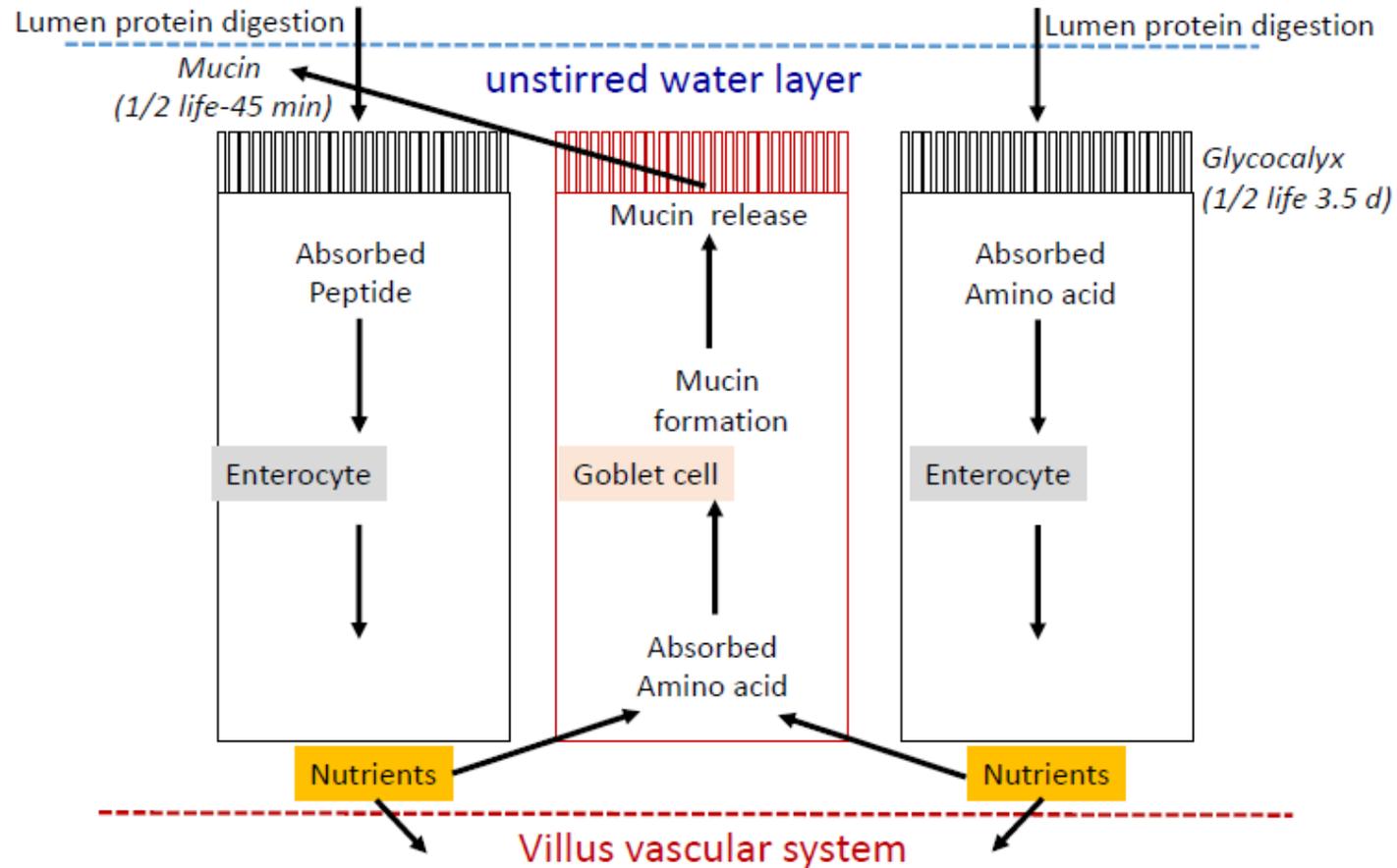
Luis-Miguel Gómez, MVZ, MSc, PhD.

Director de Investigación y Desarrollo, Solla S.A. Colombia

Profesor Inmunología y Nutrición, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad CES, Colombia.

# Sistemas Digestivos

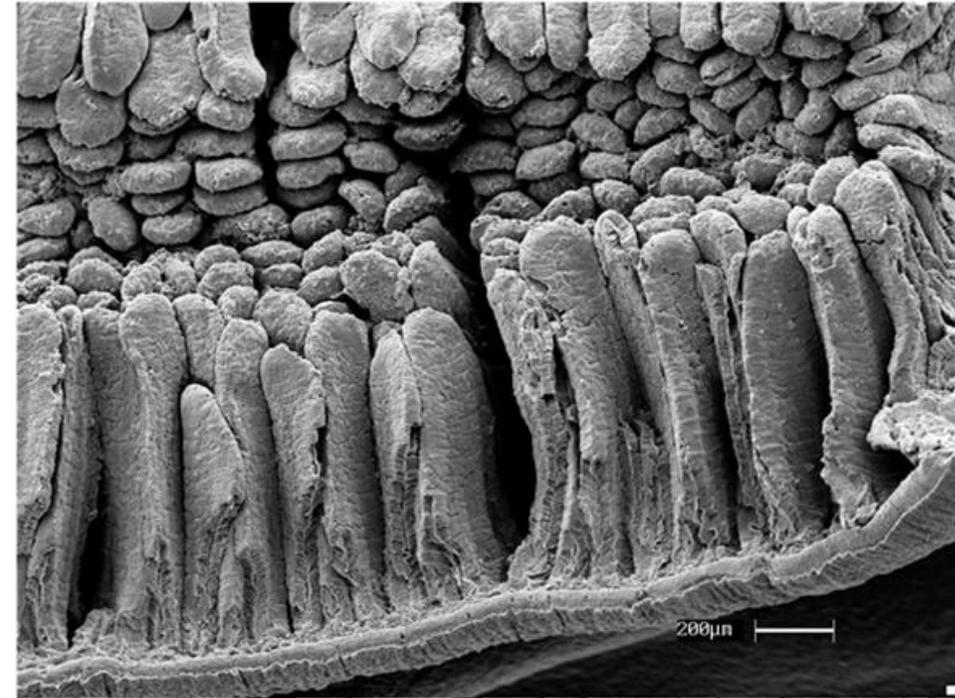
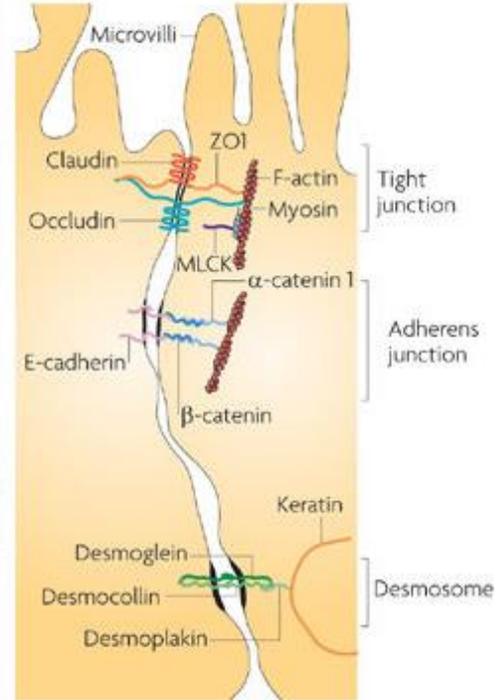


## Componentes principales - Intestino

- Capa de mucina – moco
- Tight junctions
- Enterocitos – células caliciformes
- Microbiota intestinal
- **Sistema inmune – GALT**
- Integridad – Digestibilidad - Inflamación

# Estructura Mucosa Intestinal

b

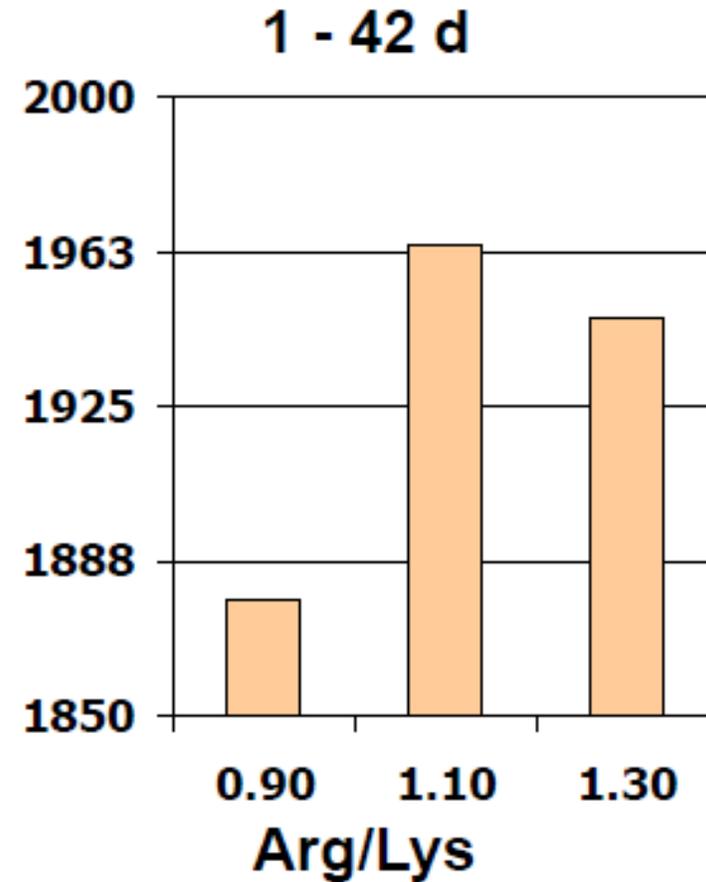
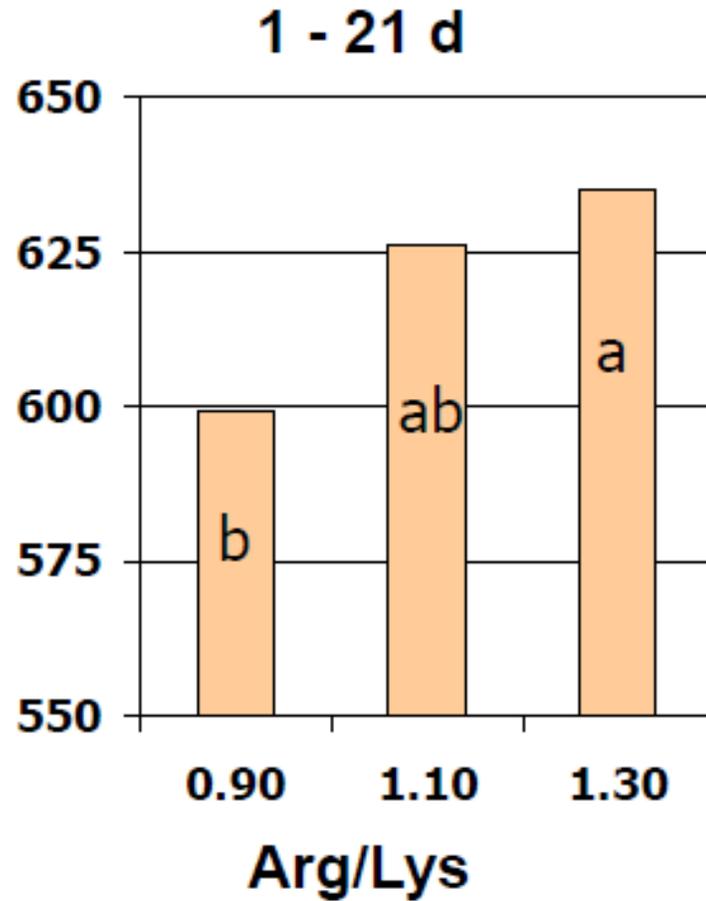


# ¿Cuál sería el costo del equilibrio intestinal?

- ✓ Mantenición y reparación de la mucosa – extrusión celular – recambio celular
  - ✓ Sistema inmune en Alerta
  - ✓ Regulación del Moco
  - ✓ Tight-junctions
- 
- 15 a 30% del O<sub>2</sub> y proteínas esenciales
  - 20% de la energía –  
equilibrio en condiciones normales

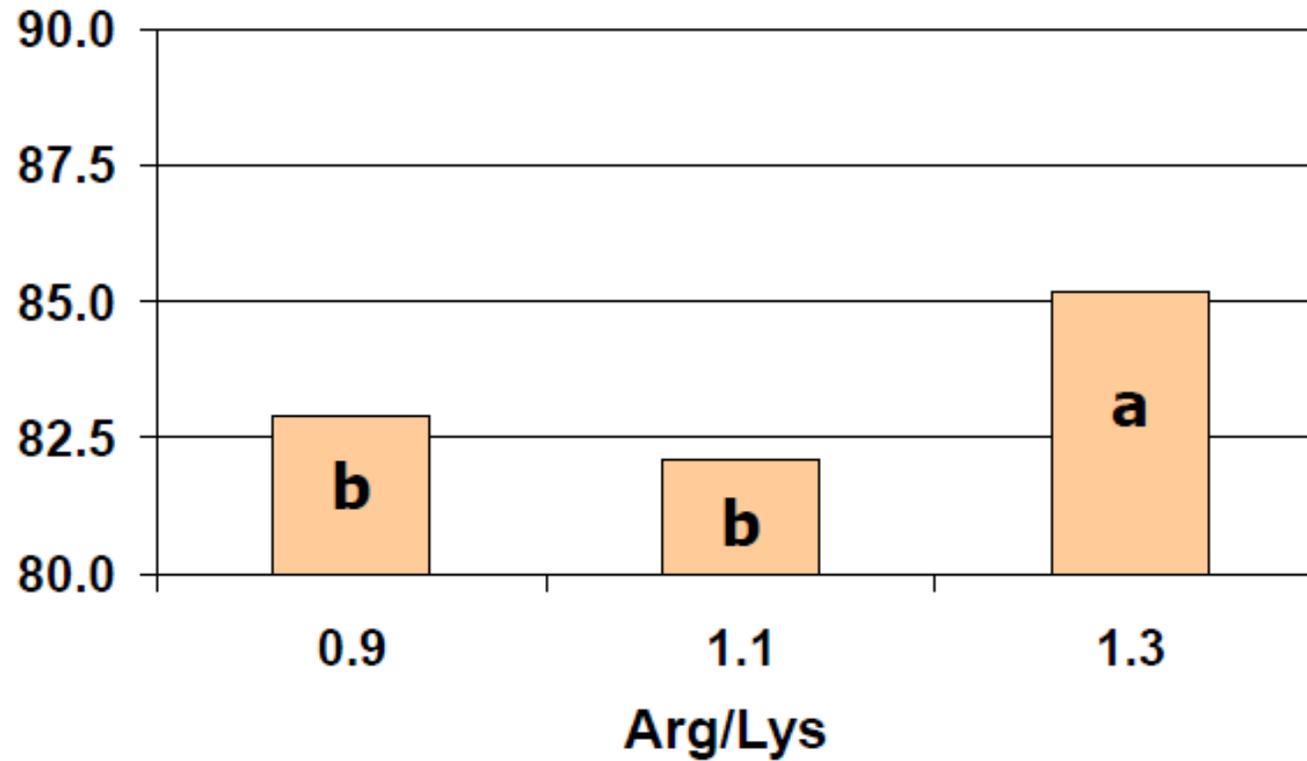


# Arg:Lys vs g/b en machos



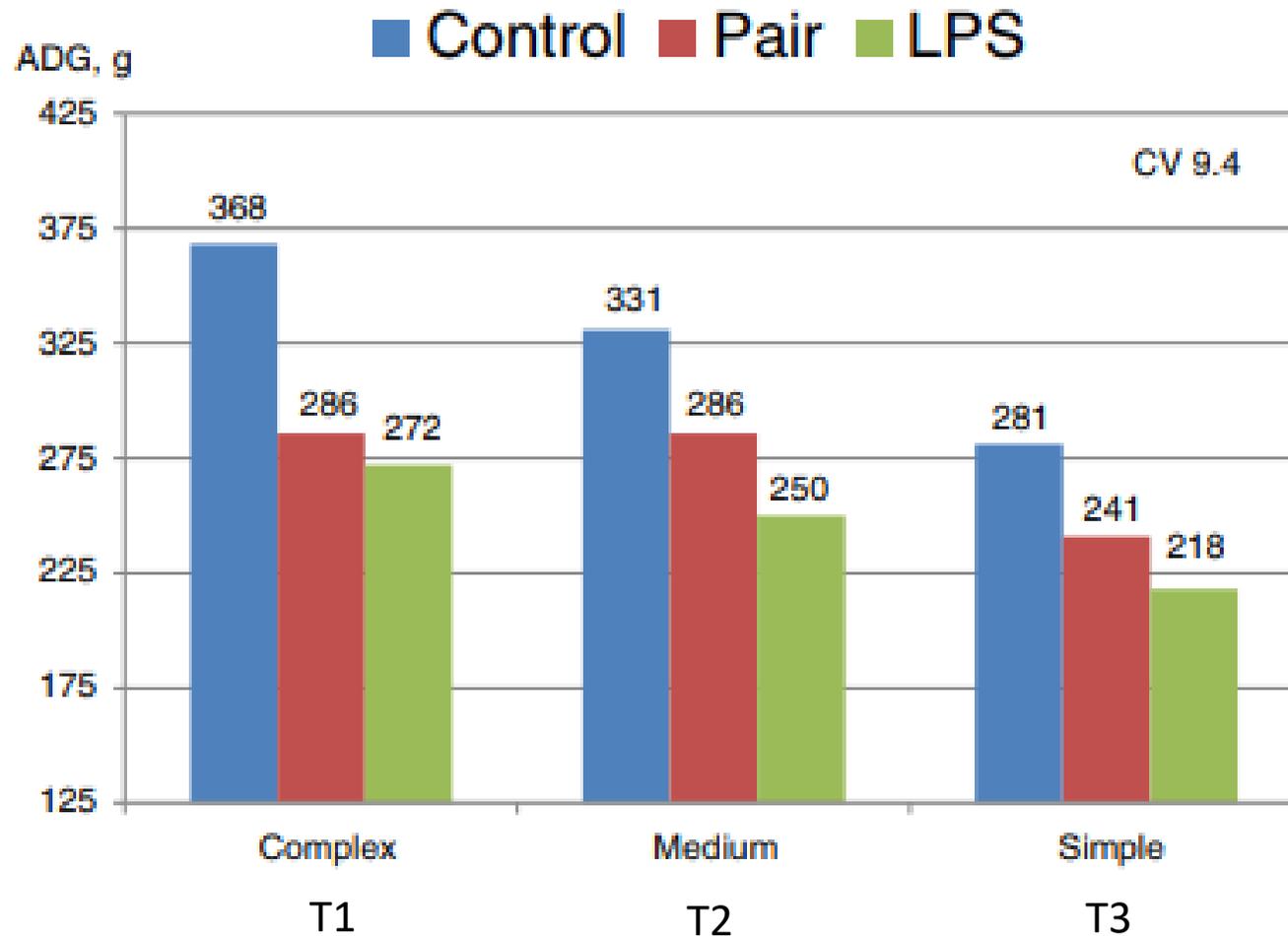
(adapted from Kidd et al. 2002)

# Supervivencia al día 42



(adapted from Kidd et al. 2002)

# Efecto de la activación del sistema inmune en la GDP en cerdos



control *ad libitum*

LPS (*ad libitum*),

No desafiados e igual consumo que LPS

T1: *Complex*: dieta ↑ cantidades plasma, pescado, sangre, suero seco

T2: *Intermediate*: cantidades intermedias de T1

T3: *Simple*: cantidades mínimas de T1

No hubo interacción entre status immune y complejidad de dieta

↑↑↑ haptoglobina

# Efecto de la Fibra dietaria en ambientes sucios o limpios en lechones

Items	Clean *		Dirty	
	Control	Fiber	Control	Fiber
d 0 to 14				
ADG, g <sup>2</sup>	128	127	132	91
ADFI, g <sup>2</sup>	228	218	275	241
Gf <sup>3</sup>	.524	.543	.452	.424

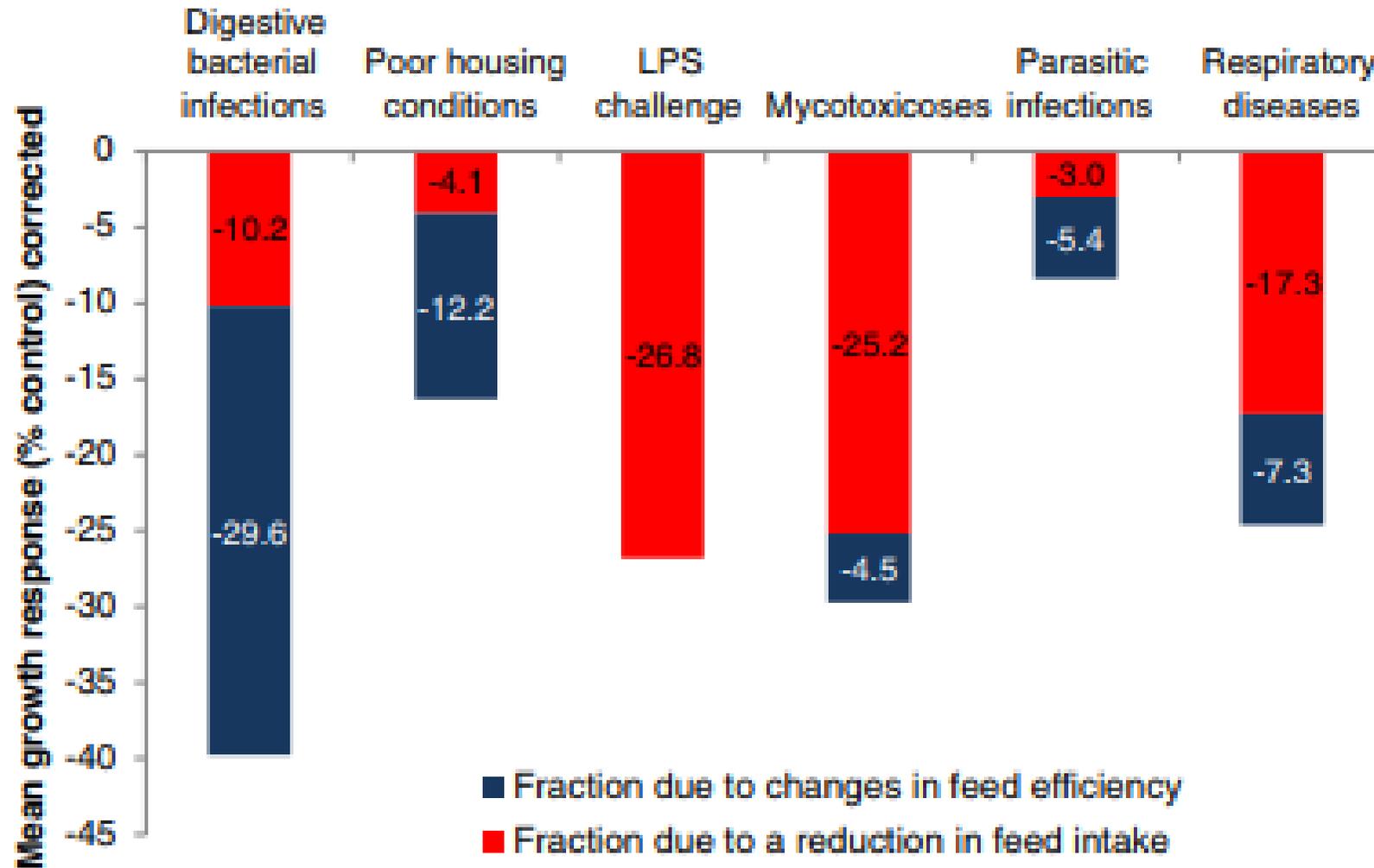
121 (control) vs 169 g/kg (fibra) de fibra dietaria

\*Limpiadas y desinfectadas

Efecto de la fibra dietaria p <0.1

Efecto de la condición sanitaria p <0.01

# Consecuencias metabólicas de un sistema inmune activado



Items	Standardized ileal digestible lysine, %									Probability, <i>P</i> <			
	SEM	Phase 1	Phase 2	Phase 3									
d 0 to 7	1.35	1.35	1.35	1.35	1.55	1.55	1.55	1.55					
d 7 to 21	1.15	1.15	1.35	1.35	1.15	1.15	1.35	1.35					
d 21 to 35	1.05	1.25	1.05	1.25	1.05	1.25	1.05	1.25					
d 0 to 7													
ADG, g	161	151	152	162	155	163	159	161	19.9	0.69	0.89	0.72	
ADFI, g	171	164	157	164	145	150	149	162	15.0	0.37	0.94	0.55	
G:F	0.962	0.926	0.965	0.997	1.054	1.089	1.074	0.984	0.059	0.01	0.93	0.63	
d 7 to 21													
ADG, g	363	365	366	371	346	333	370	375	15.8	0.41	0.18	0.98	
ADFI, g	541	530	512	521	508	506	498	517	18.4	0.16	0.49	0.78	
G:F	0.674	0.687	0.716	0.711	0.680	0.660	0.742	0.723	0.016	0.75	0.03	0.43	
d 21 to 35													
ADG, g	561	616	579	614	555	573	540	593	35.1	0.20	0.78	0.001	
ADFI, g	934	915	943	956	907	883	883	925	34.6	0.37	0.53	0.85	
G:F	0.601	0.674	0.614	0.643	0.613	0.649	0.612	0.640	0.031	0.60	0.39	<.0001	
d 0 to 35													
ADG, g	402	422	406	426	389	395	395	419	11.3	0.15	0.30	0.03	
ADFI, g	745	726	730	747	711	701	696	732	20.5	0.38	0.74	0.65	
G:F	0.645	0.692	0.666	0.683	0.658	0.676	0.681	0.688	0.011	0.52	0.07	0.001	
BW, kg													
d 0	5.71	5.70	5.73	5.68	5.71	5.75	5.71	5.71	0.05	0.59	0.24	0.43	
d 7	6.84	6.76	6.79	6.81	6.80	6.89	6.83	6.83	0.19	0.67	0.91	0.85	
d 21	11.93	11.86	11.95	12.00	11.67	11.55	12.01	12.09	0.32	0.54	0.14	0.94	
d 35	19.78	20.64	20.05	20.59	19.44	19.57	19.57	20.38	0.36	0.14	0.37	0.04	

Arreglo factorial  
2 x 2 x 2  
8 réplicas  
por tratamiento

No hubo interacción

# THE GUT

## Our Second Brain

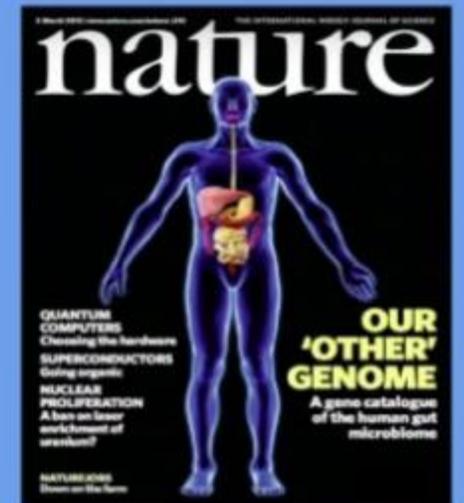


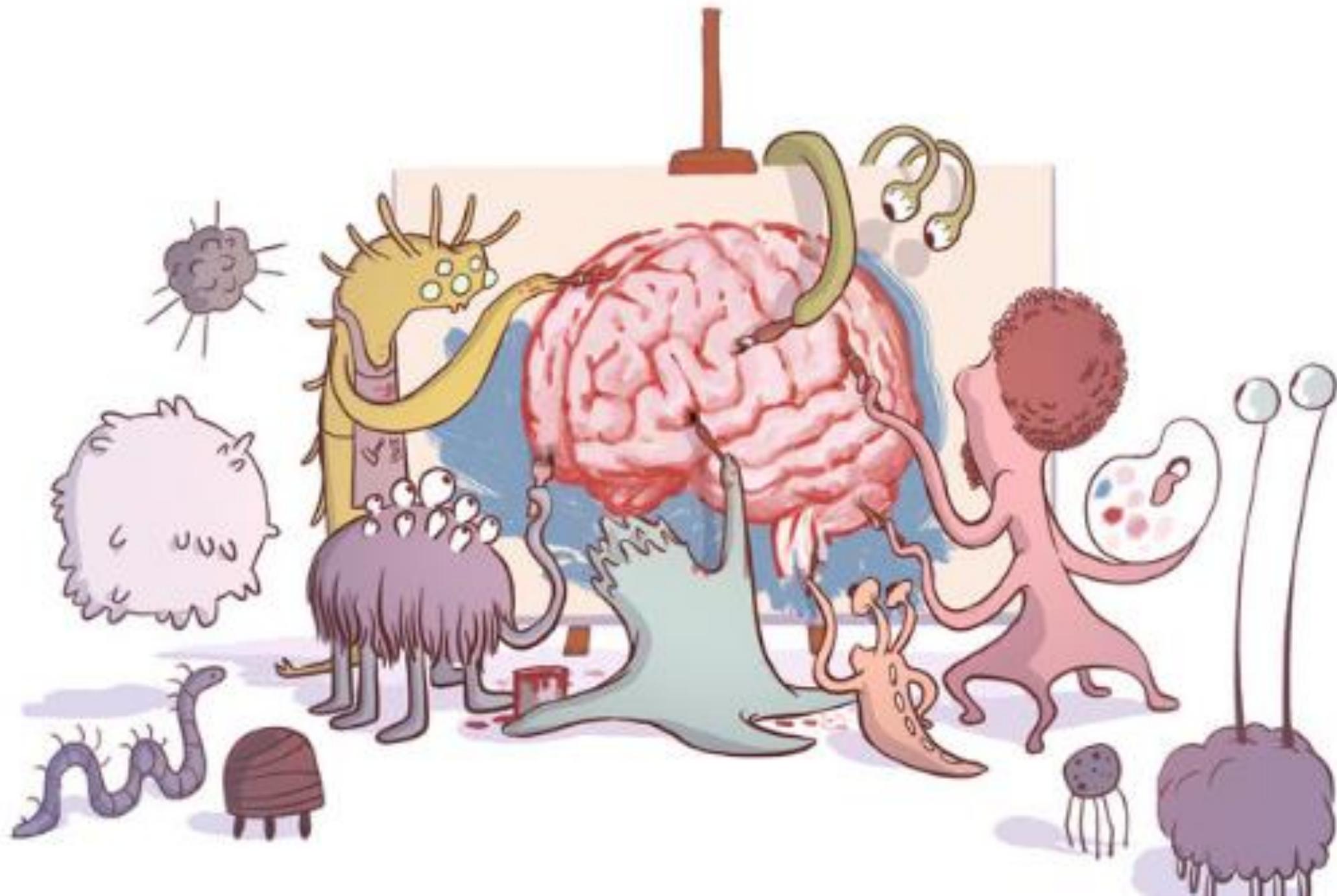
xivetv



**Our Microbiome = we live in a symbiotic relationship with bugs; we are ostensibly a community supporting each other**

- **Our microbiome...**
  - Is inhabited by 100 trillion microorganisms
  - This is 10x the number of cells in the human body
  - Has 150x as many genes than we have
  - Co-exists with gut pathogens
  - Regulates the immune system
  - Regulates the endocrine system
  - Modulates digestion (Vitamin K2, single chain fatty acids, and fructose)
  - Weighs 2-6 pounds

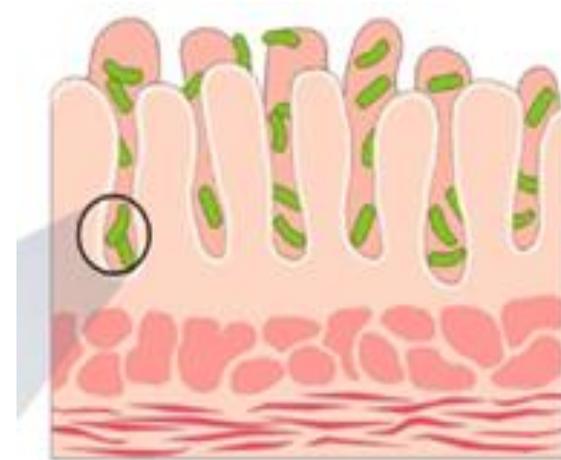




# Microbiota intestinal actúa en diversas funciones de los cerdos

1. Excluir patógenos
2. Integridad intestinal
3. Regulación del Moco
4. Sistema Inmune – sistémico e local
5. Metabolismo nutrientes
6. Producción de vitaminas
7. Sistema nervioso

**DISBIOSIS**



## **Structural Functions**

Barrier fortification

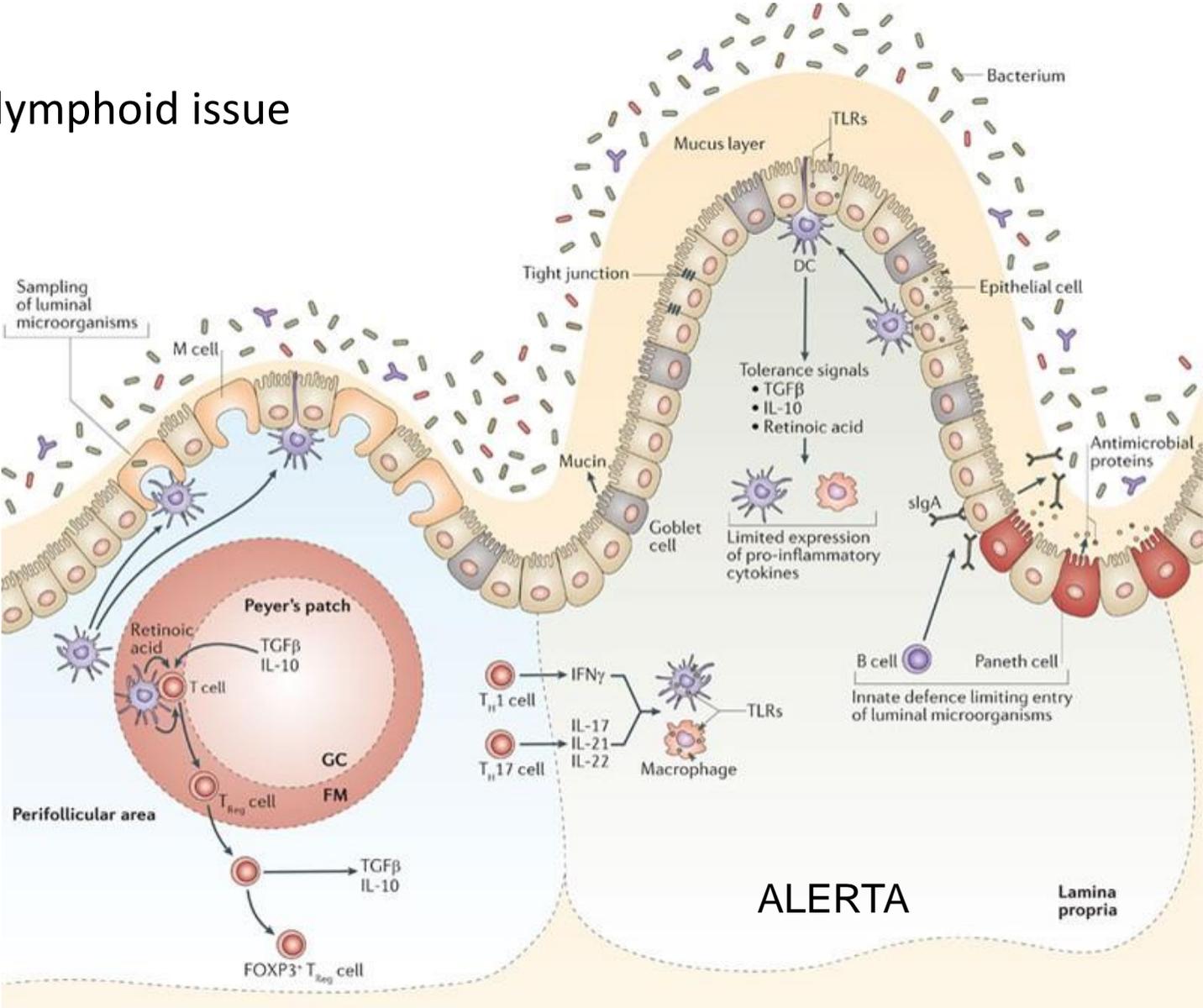
Induction of IgA

Apical tightening of tight junctions

Immune system development

# Sistema inmune - GALT

- GALT- Gut associated lymphoid issue

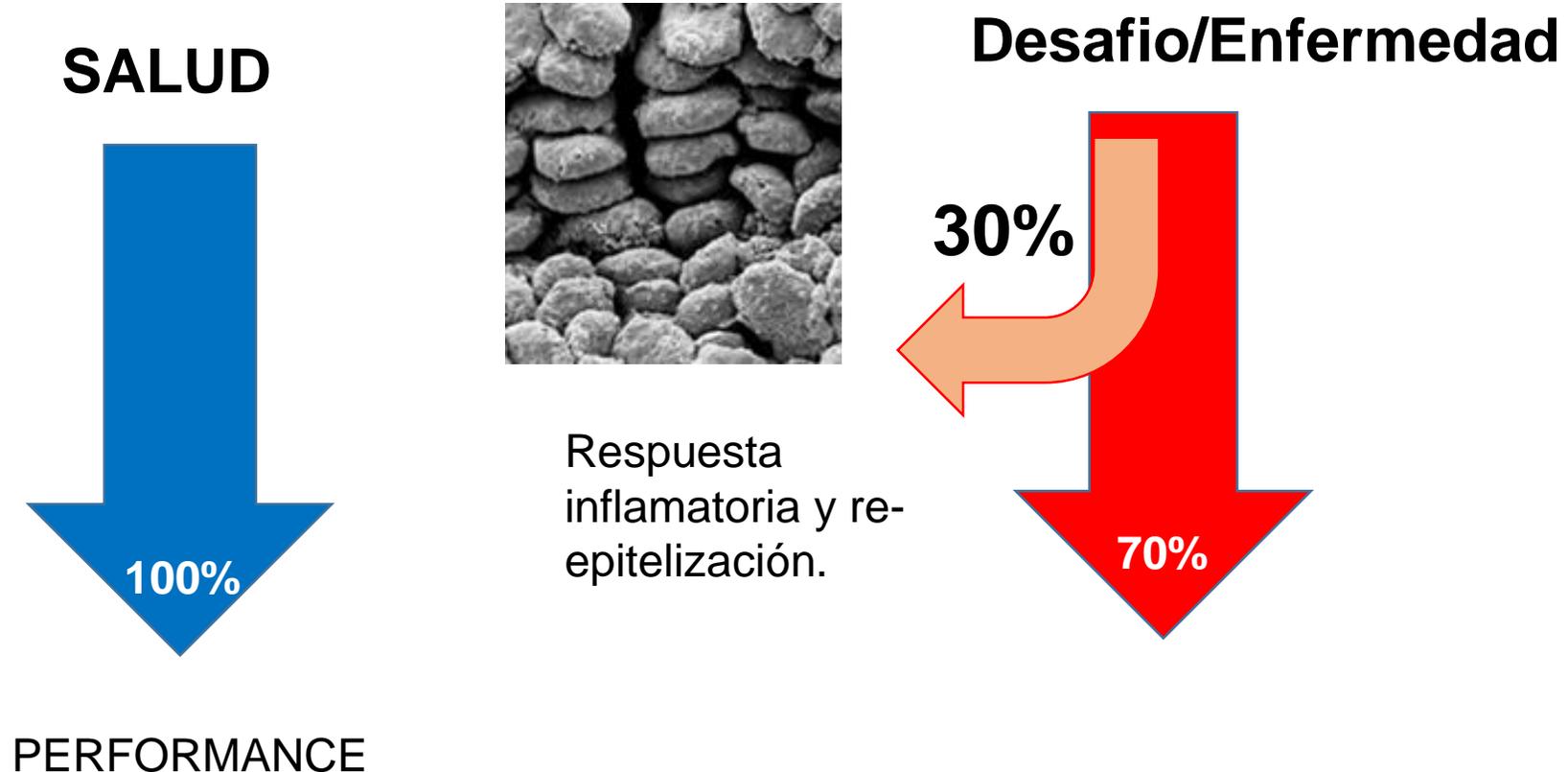


- Células M
- Linfocitos T
- Linfocitos B
- Macrofagos
- Células Dendríticas

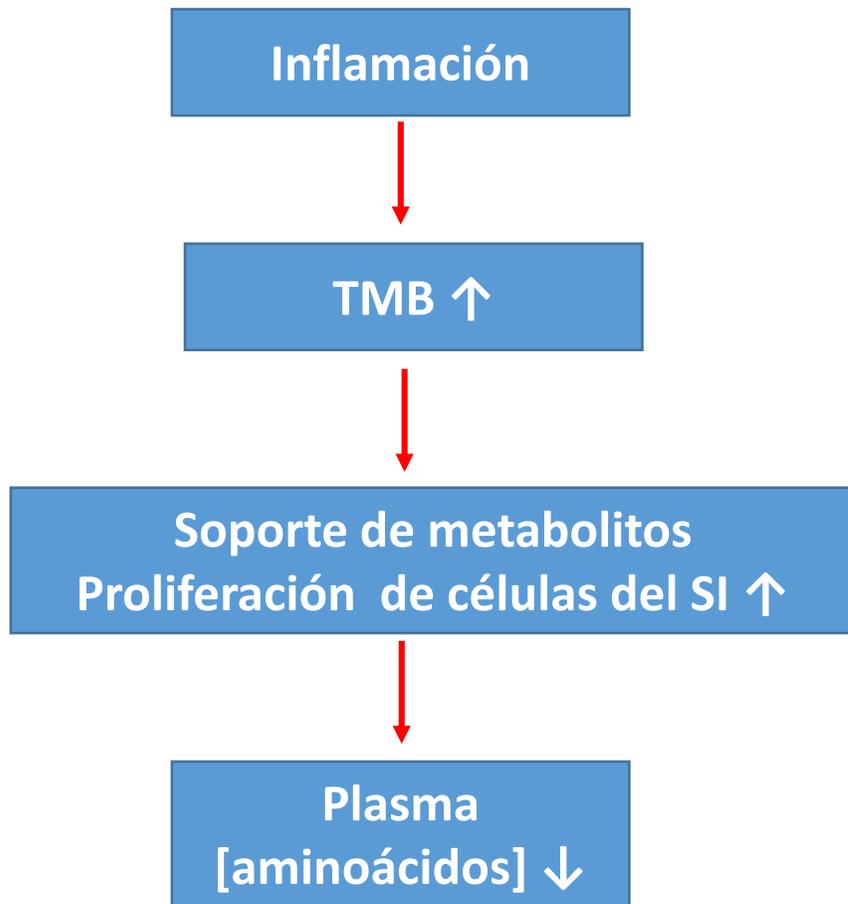
# La inflamación afecta el desempeño

Procesos inflamatorios - 30% de la energía y nutrientes

33% aminoácidos



# Metabolismo de aminoácidos durante la inflamación



↑ Ala para gluconeogénesis

↑ Gly y Cys para síntesis de Glutation

Plasma ↓ AA:

Energía para proliferación celular

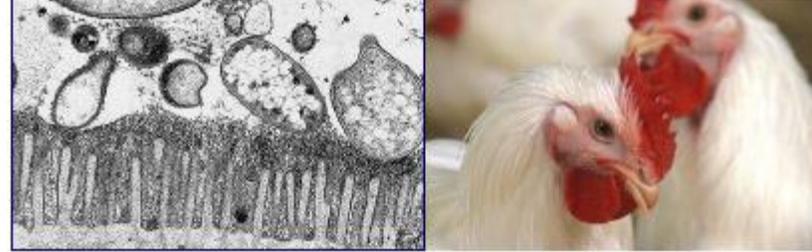
Sustratos para moléculas de inflamación  
(RFA-ricos en AA aromáticos)

Trp → Kineurina/serotonina/melatonina

Phe → Tyr → Thyroxina/Norepi/epi

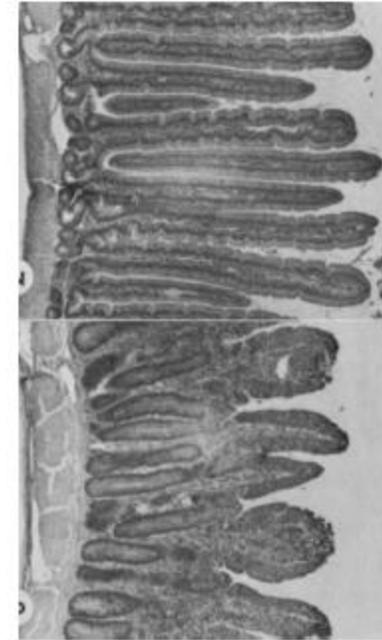
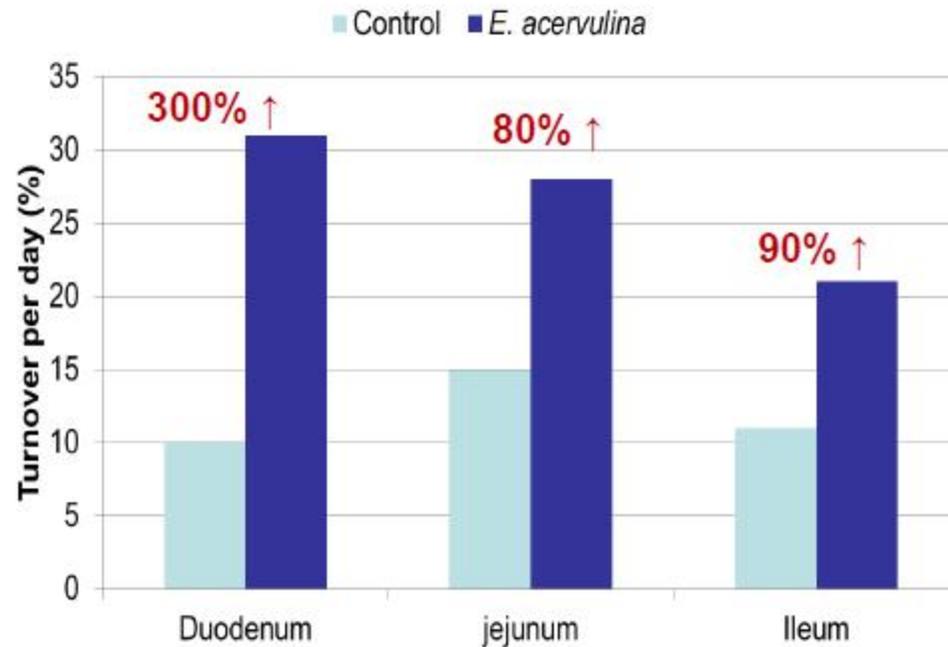
Arg → NO → citoquinas pro-inf

## GIT & Maintenance



- GIT consumes approximately 20% of dietary energy
- **Protein turn-over rate of 50 to 75% per day (Cant et al., 1996)**
- **~25% of daily protein synthesis can be secreted into the gut (Simeon et al., 1983)**

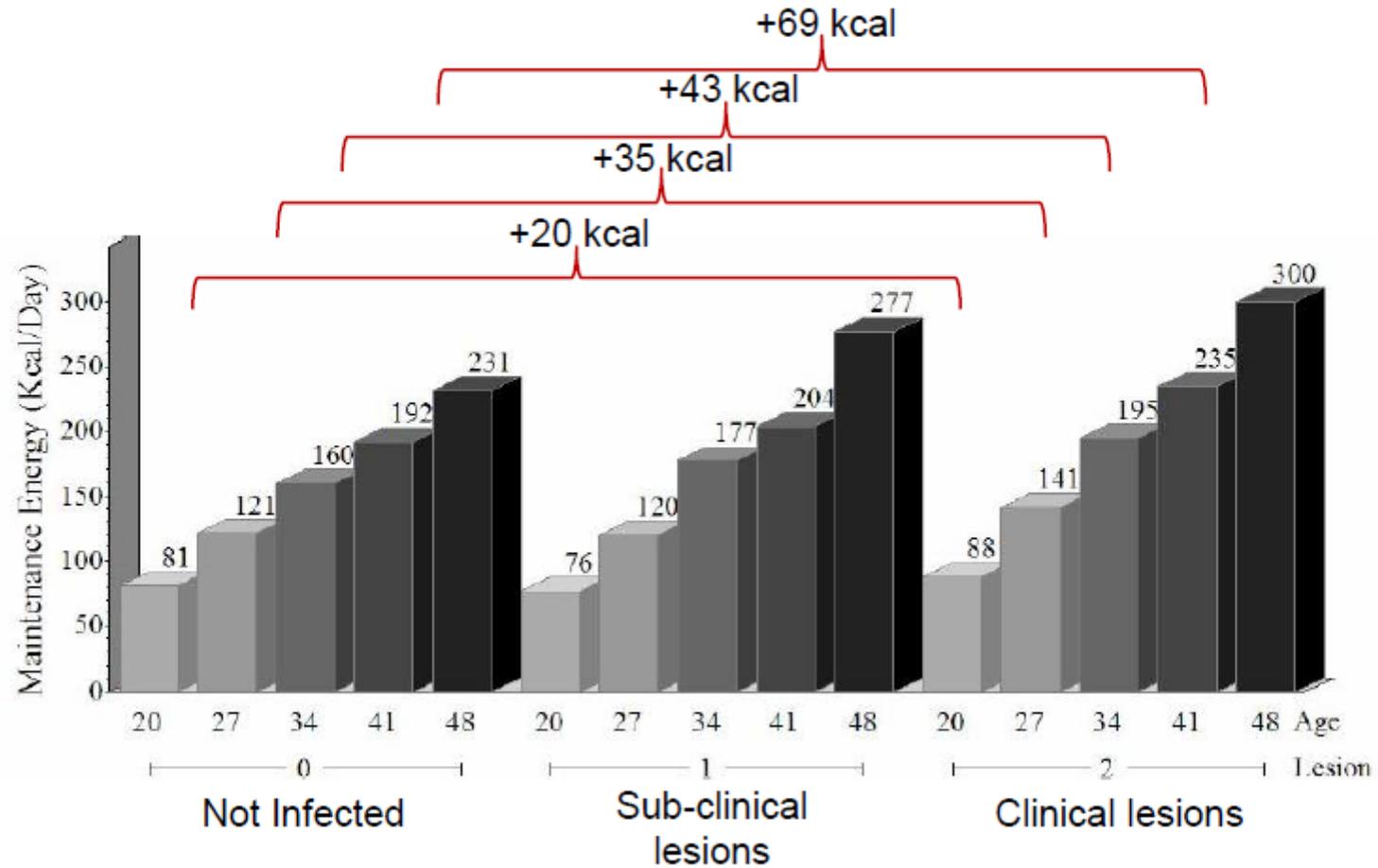
# Cocci challenge & intestinal turnover



250,000 sporulated *E. acervulina* oocysts;  
turnover determined 3 and 4 days post-challenge

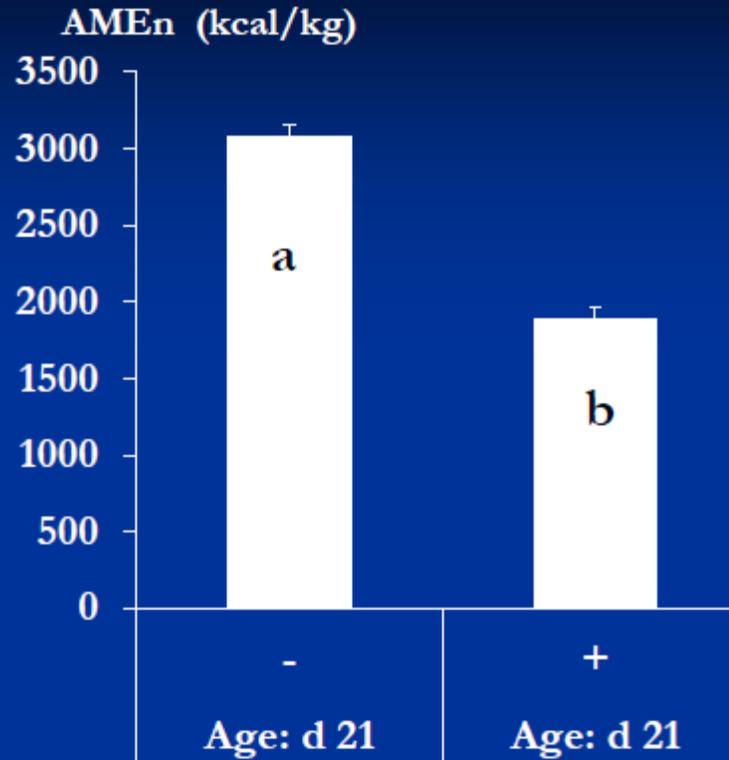
Fernando & Mcraw, 1973

# Emeria & additional "maintenance"



Teeter et al., 2008

## Can diet density partially recover this loss?



If only consider  
additional energy

3,271 kcal/kg

- 1,785 kcal/kg

1,486 kcal/kg

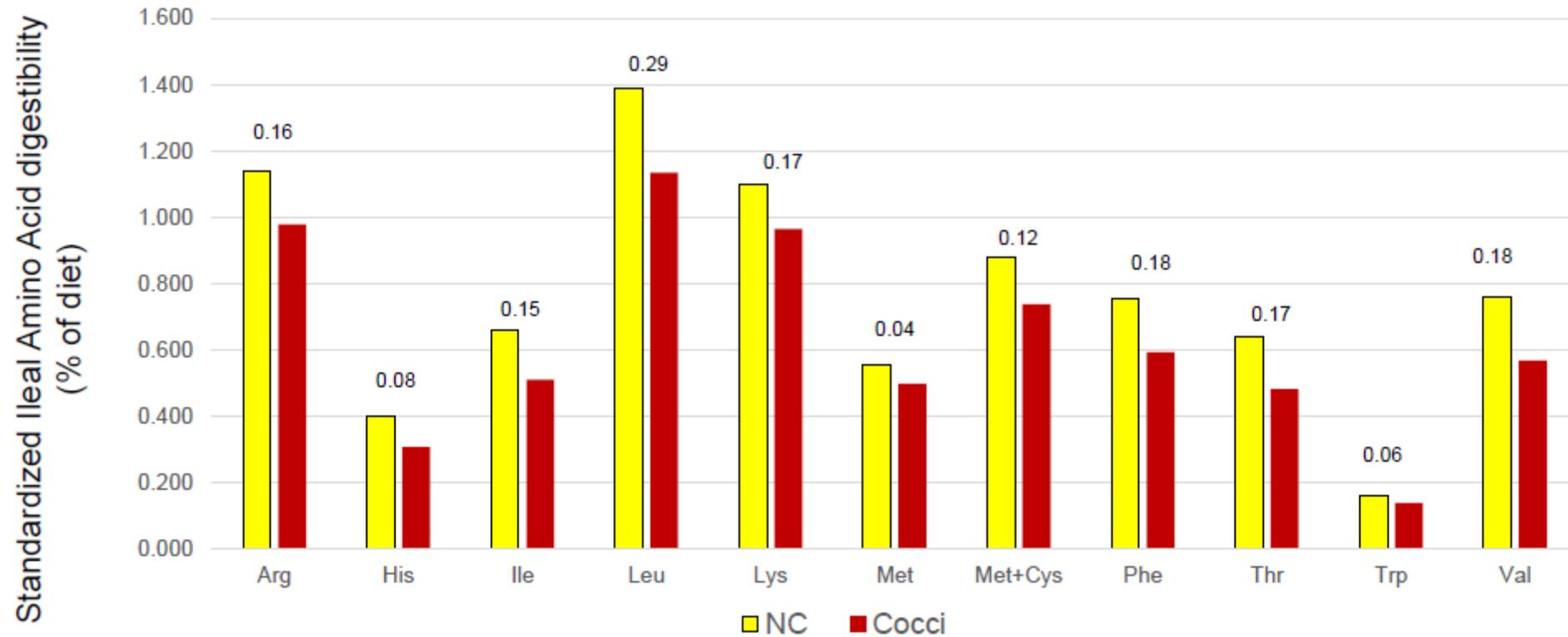
+ 18.5% fat to diet

(not practical)

+/- coccidial vaccine challenge (12X)

Adedokun et al., 2015

# Impact of Cocci on Standardized Ileal Digestibility

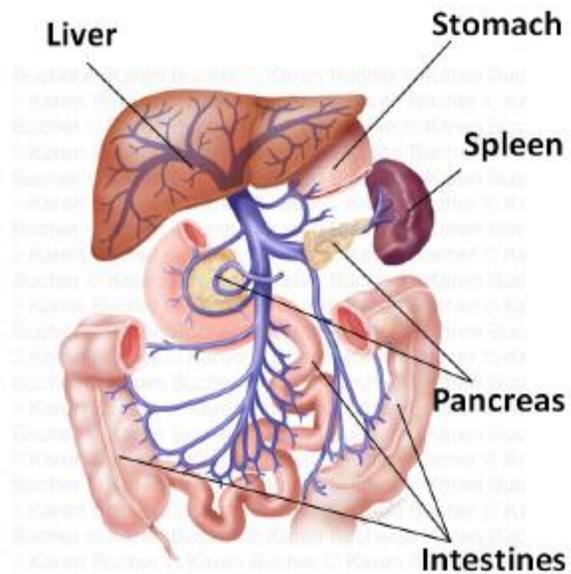


6 days post 12X Coccidial Vaccine

Adedokun et al., 2015

# Threonine Use by the GIT

## ➤ Renewal of intestinal mucosa



### First-pass retention:

Thr: > 60%

other essential amino acids: 14-33%

(Stoll, 2006)

### Severe Thr deficiency:

Intestine was more sensitive than the liver

(Law et al., 2007)

### Marginal Thr deficiency:

↓ Thr content in plasma, liver & carcass

No influence on the intestine

(Hamard *et al.*, 2009)

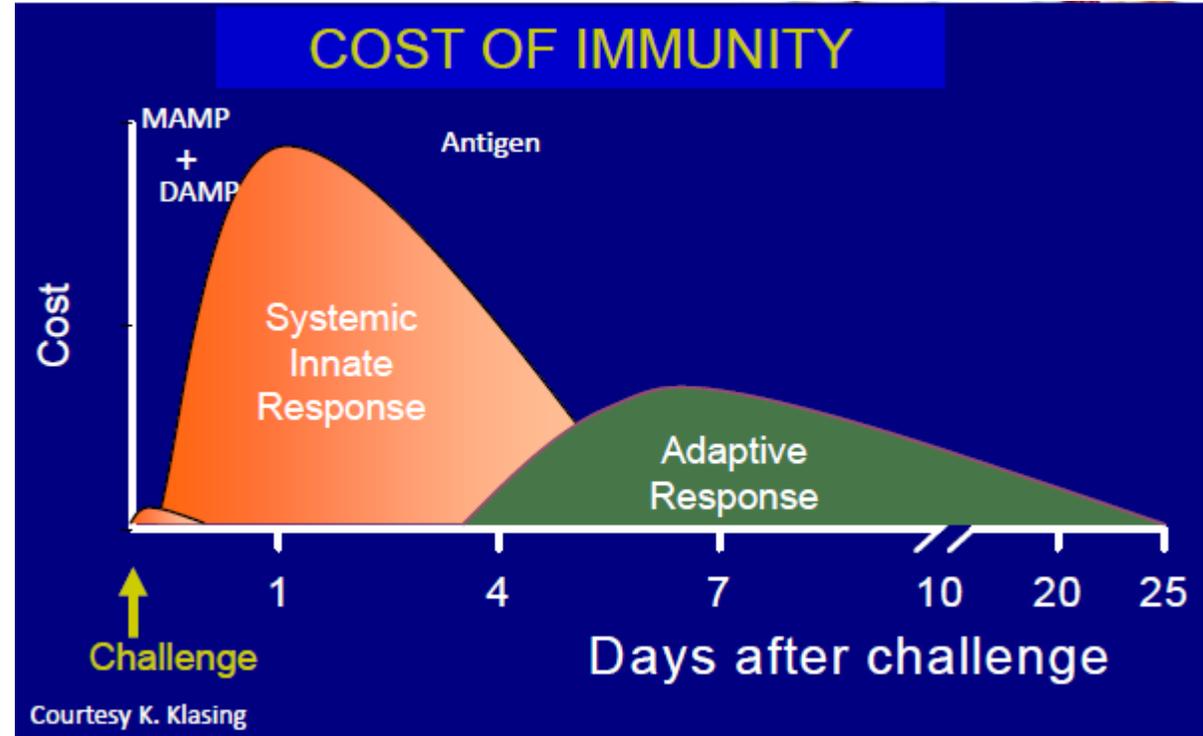
**Intestine may have the priority over other tissues  
for threonine utilization**

# Cost of coccidiosis infection

- **Economic costs**
  - Cost of prophylaxis
  - Cost of treatment
  - Cost of lost performance
- **Nutritional and energetic costs**
  - Cost of innate immune response
  - Cost of adaptive (antibody) response
  - Tissue damage, repair and recovery
  - Reduced nutrient absorption

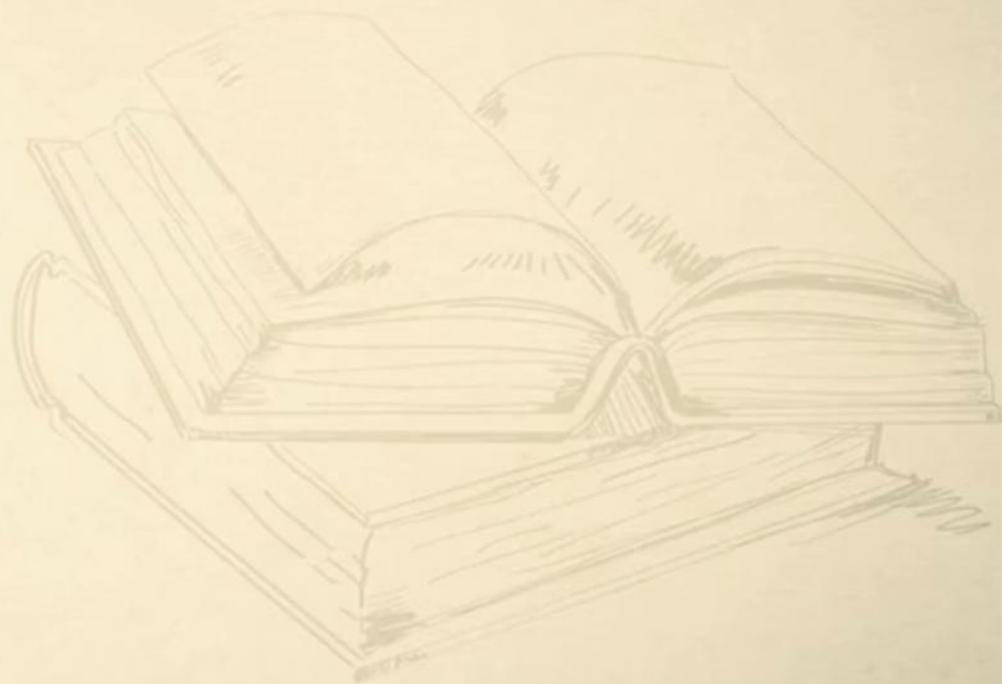
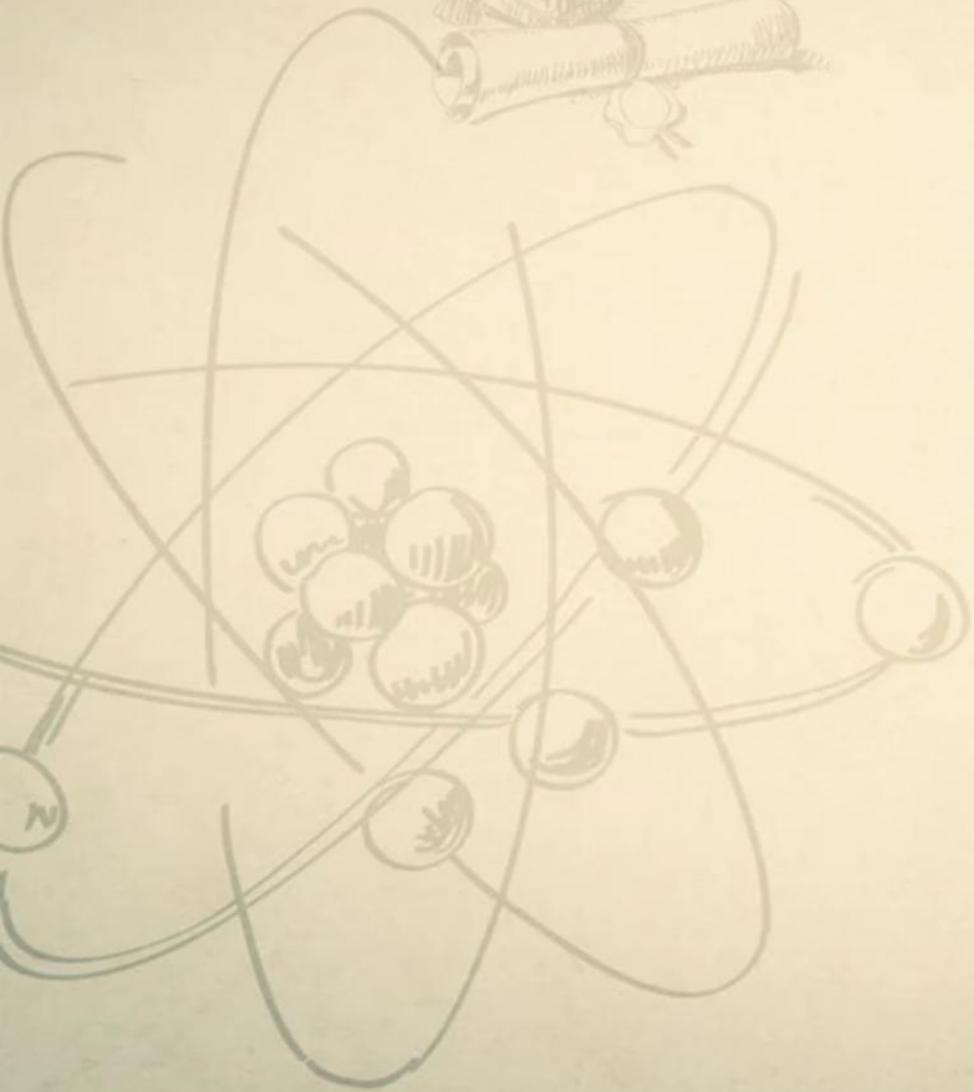
## Reducing the cost of infection or vaccination

- Shift systemic response of inflammation to local
- More rapid shift from innate to adaptive immune response

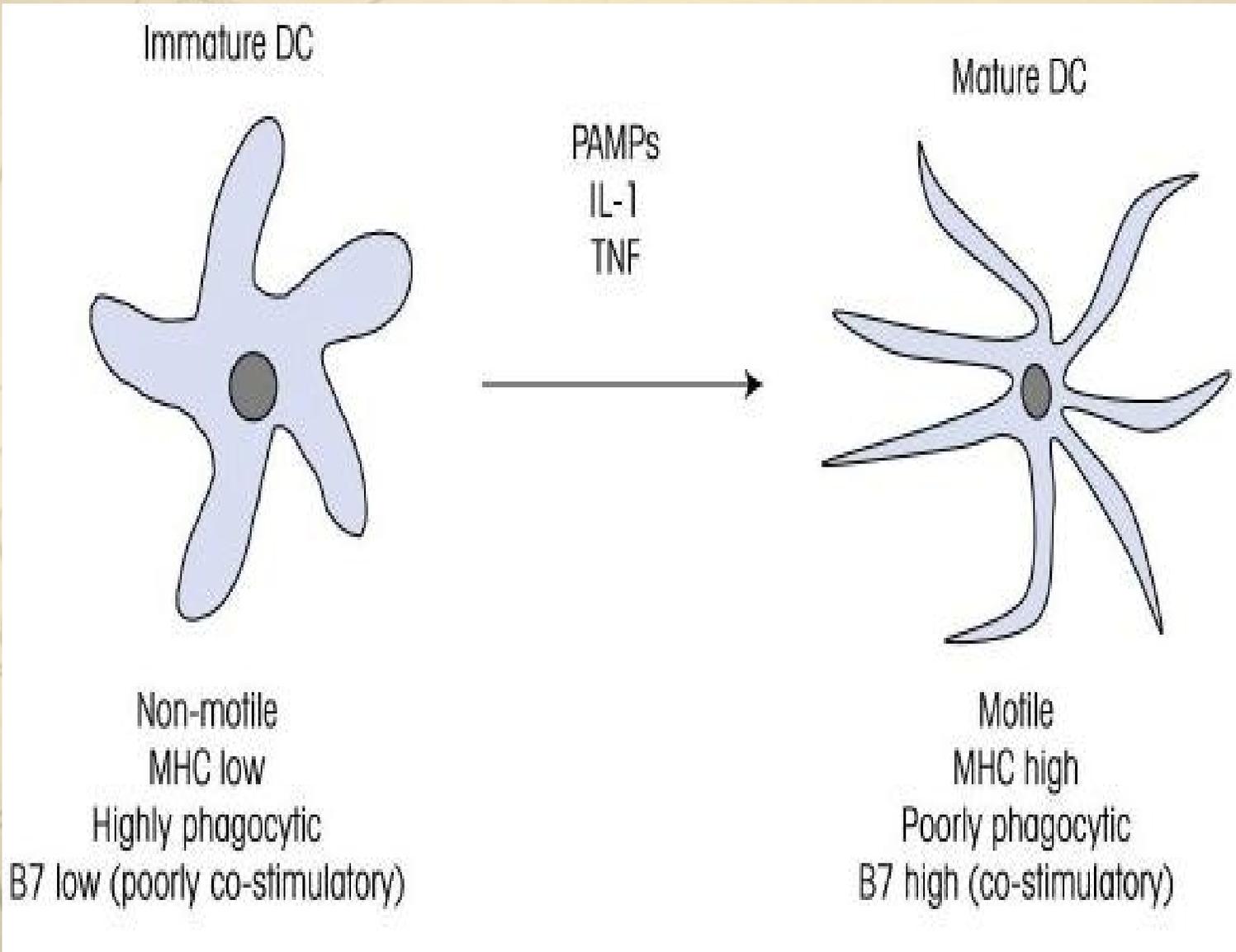


Adaptado de Korver, Poultry Universe Congress, 2018

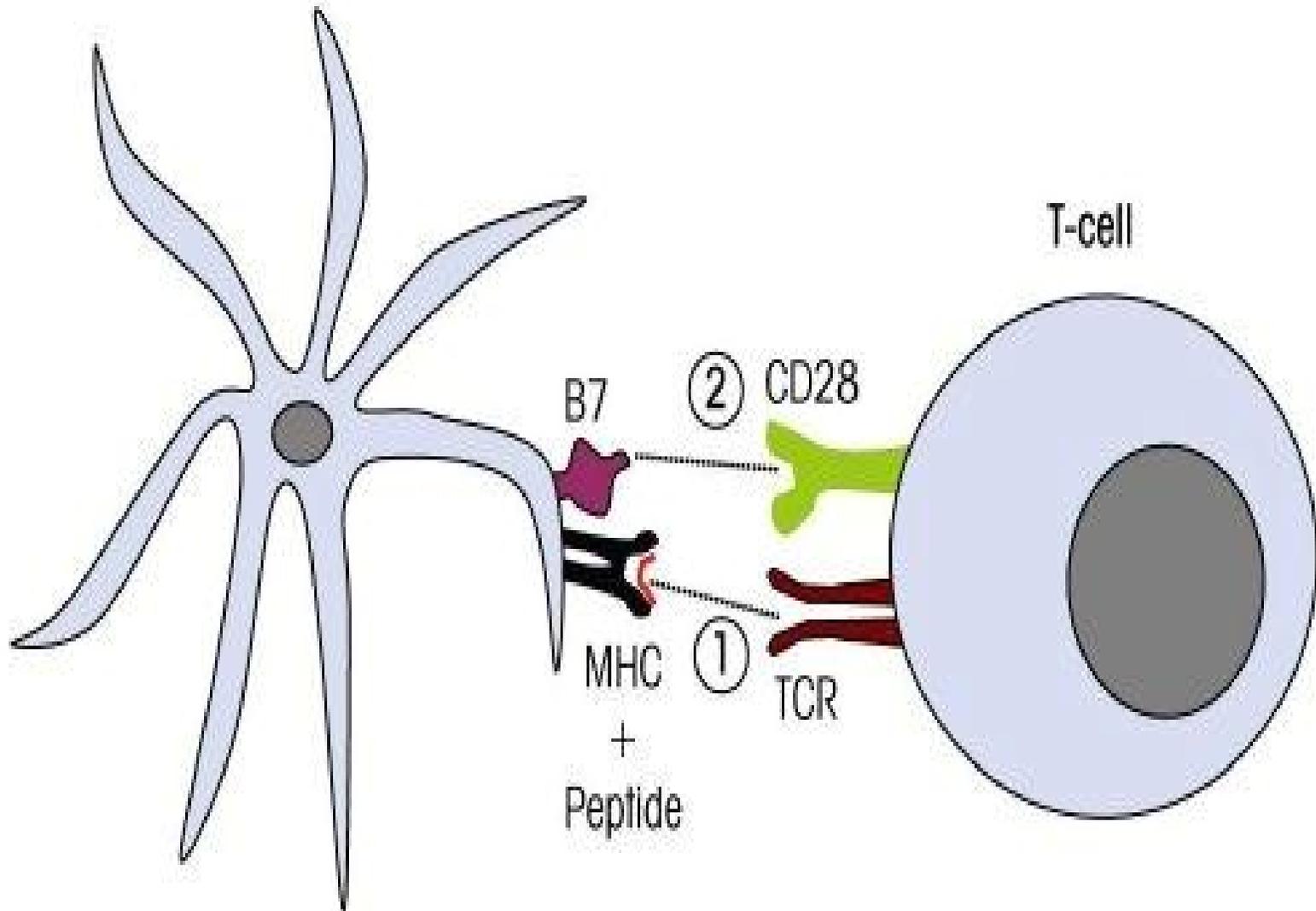
Mil gracias



# *CELULAS DENDRITICAS*



Dendritic cell



T-cell

B7

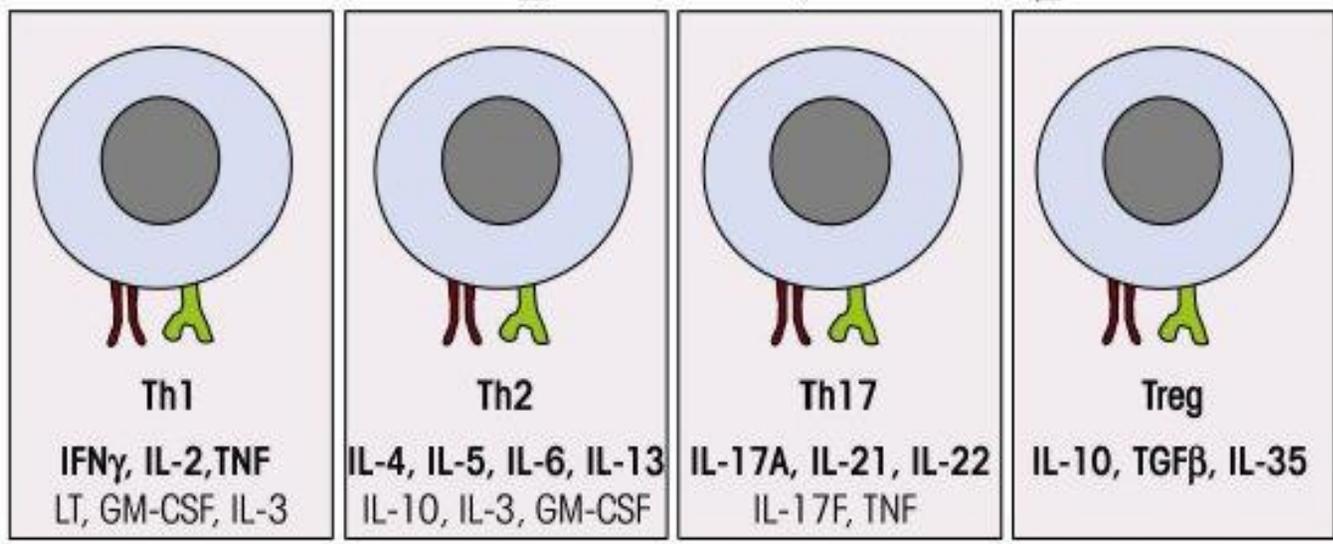
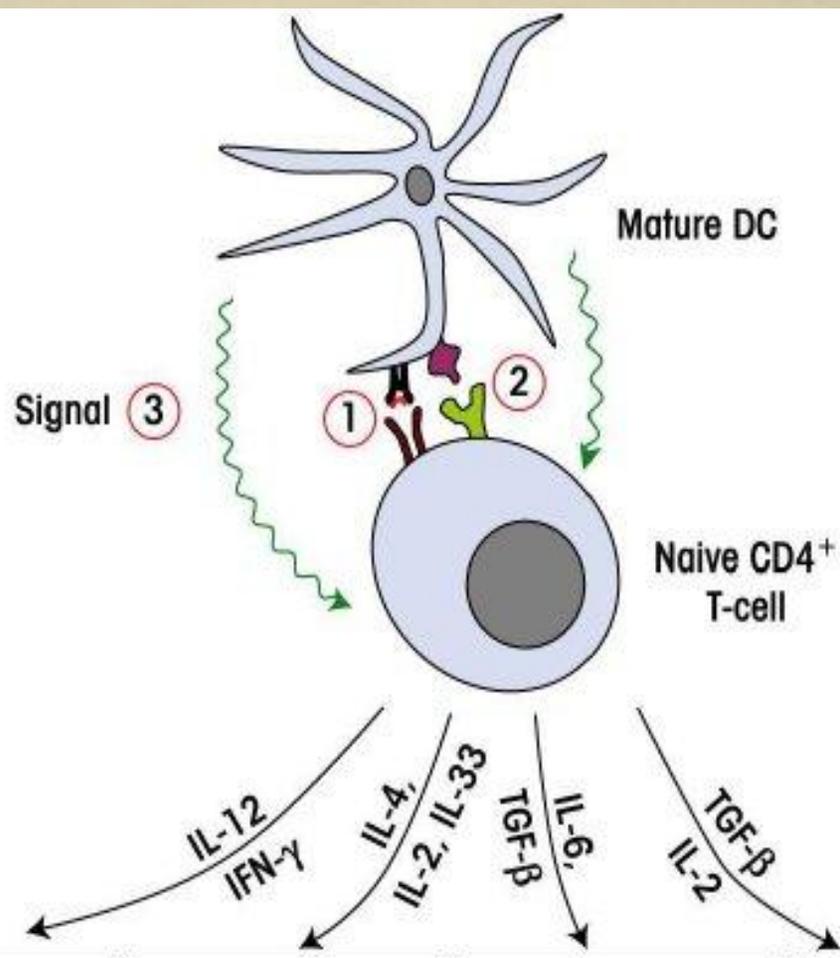
② CD28

MHC

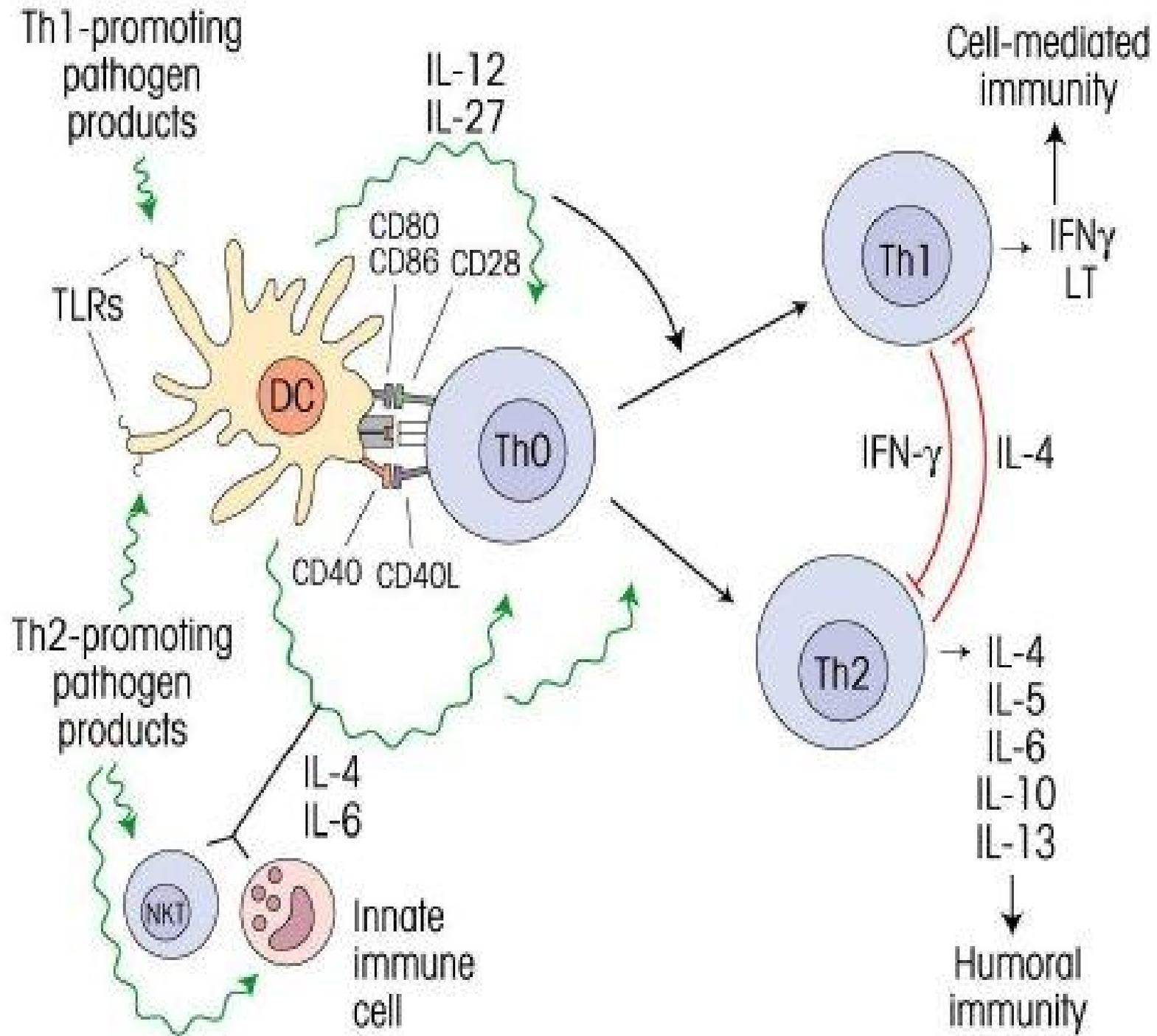
①

TCR

+  
Peptide

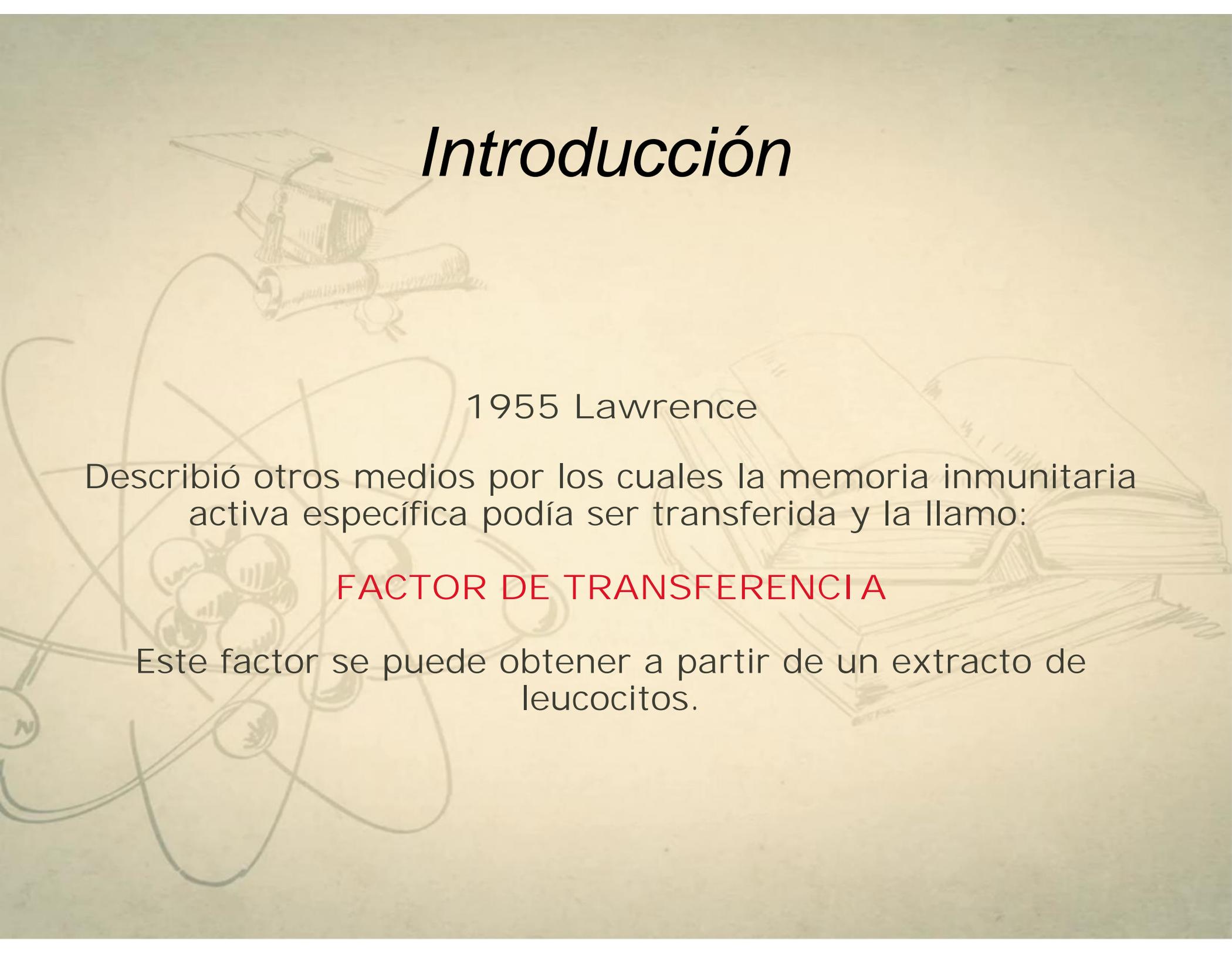


Major cytokines:  
Other cytokines:





# *Introducción*



1955 Lawrence

Describió otros medios por los cuales la memoria inmunitaria activa específica podía ser transferida y la llamo:

**FACTOR DE TRANSFERENCIA**

Este factor se puede obtener a partir de un extracto de leucocitos.

# Potencia



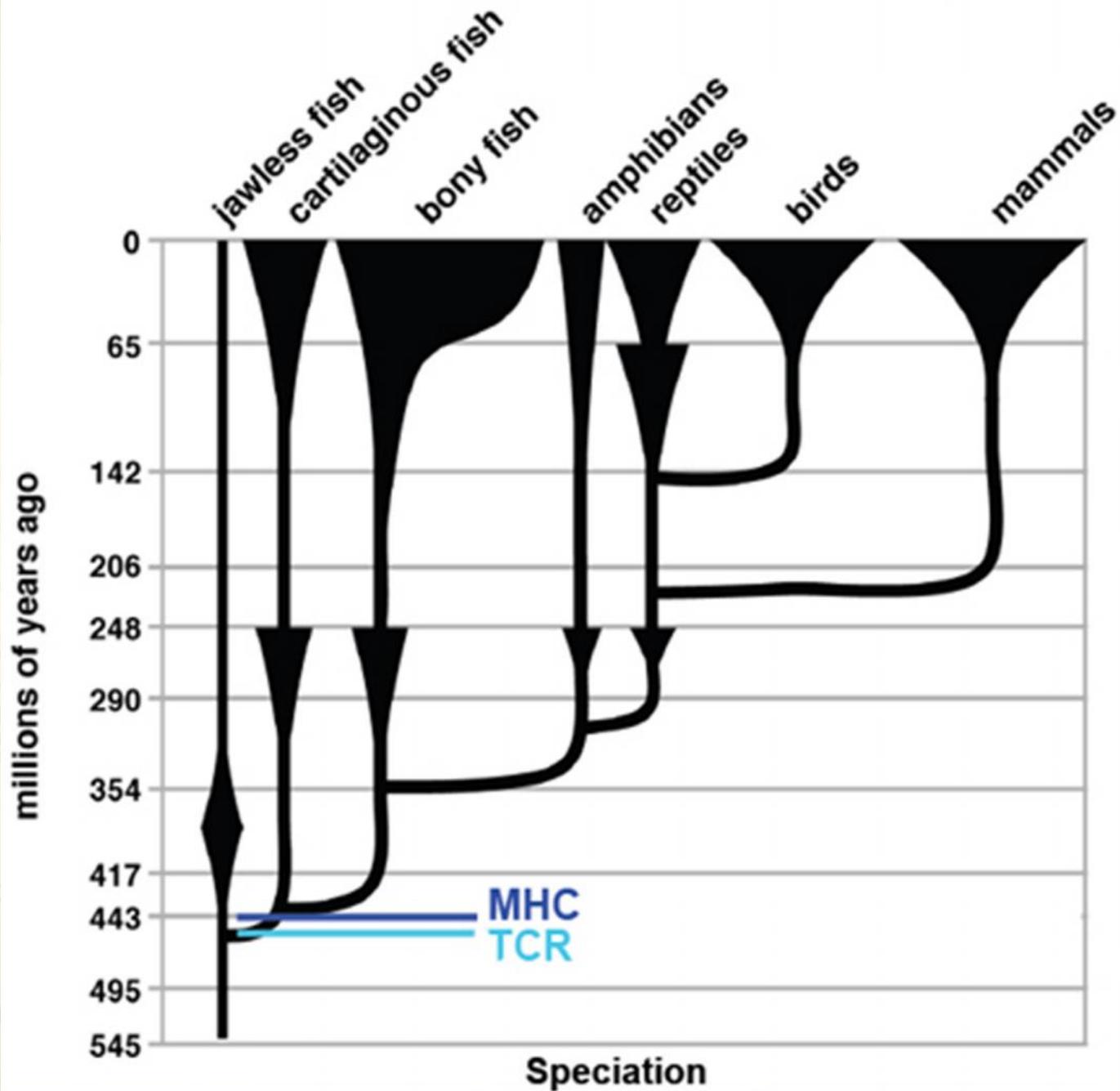
# Potencia



1:10000



# Evolution of Adaptive Immune System





# Estudios



*Ratones BALB/c  
Grupos de 8*



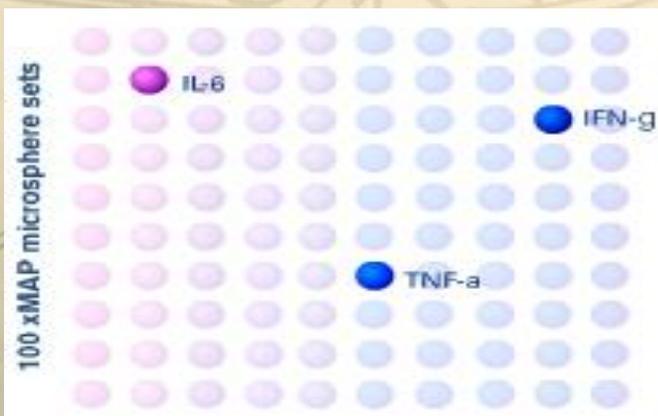
*0.005 U FT  
-Humano  
-Cocodrilo*

*Tiempos de incubación  
0, 2, 6, 24, 48, 72, 96 y  
120 h.  
Estudio tipo  
cinético.*



*Extracción de 50 uL de  
sangre*

*Separación de suero sanguíneo  
(50uL)*



# *Citocinas Encontradas*

CITOCINA	CITOCINA
EOTAXIN	IL-15
G-CSF	IL-17
GM-CSF	IP-10
INF-	MIP-2
IL-1	KC
M-CSF	LIF
IL-1	LIX
IL-2	MCP-1
IL-3	MIP-1
IL-4	MIP-1
IL-5	MIG
IL-6	RANTES
IL-7	TNF
IL-10	IL-12 (P70)
IL-12 (p40)	VEGF
IL-13	IL-9

P. 2896#1 pH 3-10 (solut 10% 8/19/14) Especifico Supplemento Alimenticio

220

94

60

43

29

14



P. 2.897 # 1 PH 3-101500014 16.5% 8126114 Especifico Suplemento Alimenticio

94

60

43

29

14

10

8

6

3

A



## Protein View: gi|489539677

**MULTISPECIES: 50S ribosomal protein L7/L12 [Pseudomonas]**

**Database:** NCBIInr  
**Score:** 110  
**Nominal mass (M<sub>r</sub>):** 12341  
**Calculated pI:** 4.66  
**Taxonomy:** [Pseudomonas](#)

This protein sequence matches the following other entries:

- [gi|459961210](#) from [Pseudomonas sp. Lz4W](#)
- [gi|515447009](#) from [Pseudomonas sp. CF149](#)

Sequence similarity is available as [an NCBI BLAST search of gi|489539677 against nr.](#)

### Search parameters

**MS data file:** KW\_092014\_02.pkl  
**Enzyme:** Trypsin: cuts C-term side of KR unless next residue is P.  
**Fixed modifications:** [Propionamide \(C\)](#)  
**Variable modifications:** [Oxidation \(M\)](#)

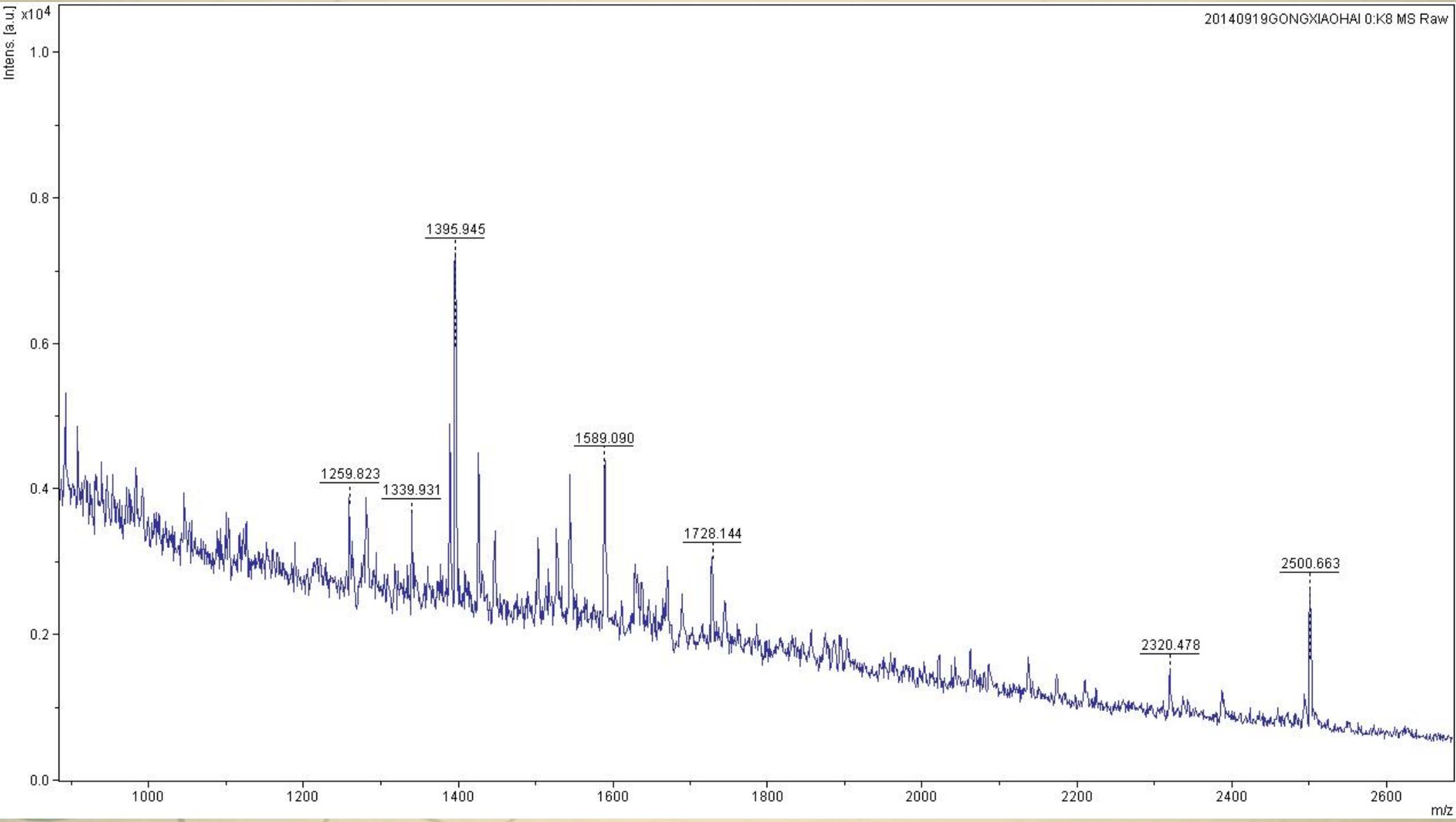
### Protein sequence coverage: 21%

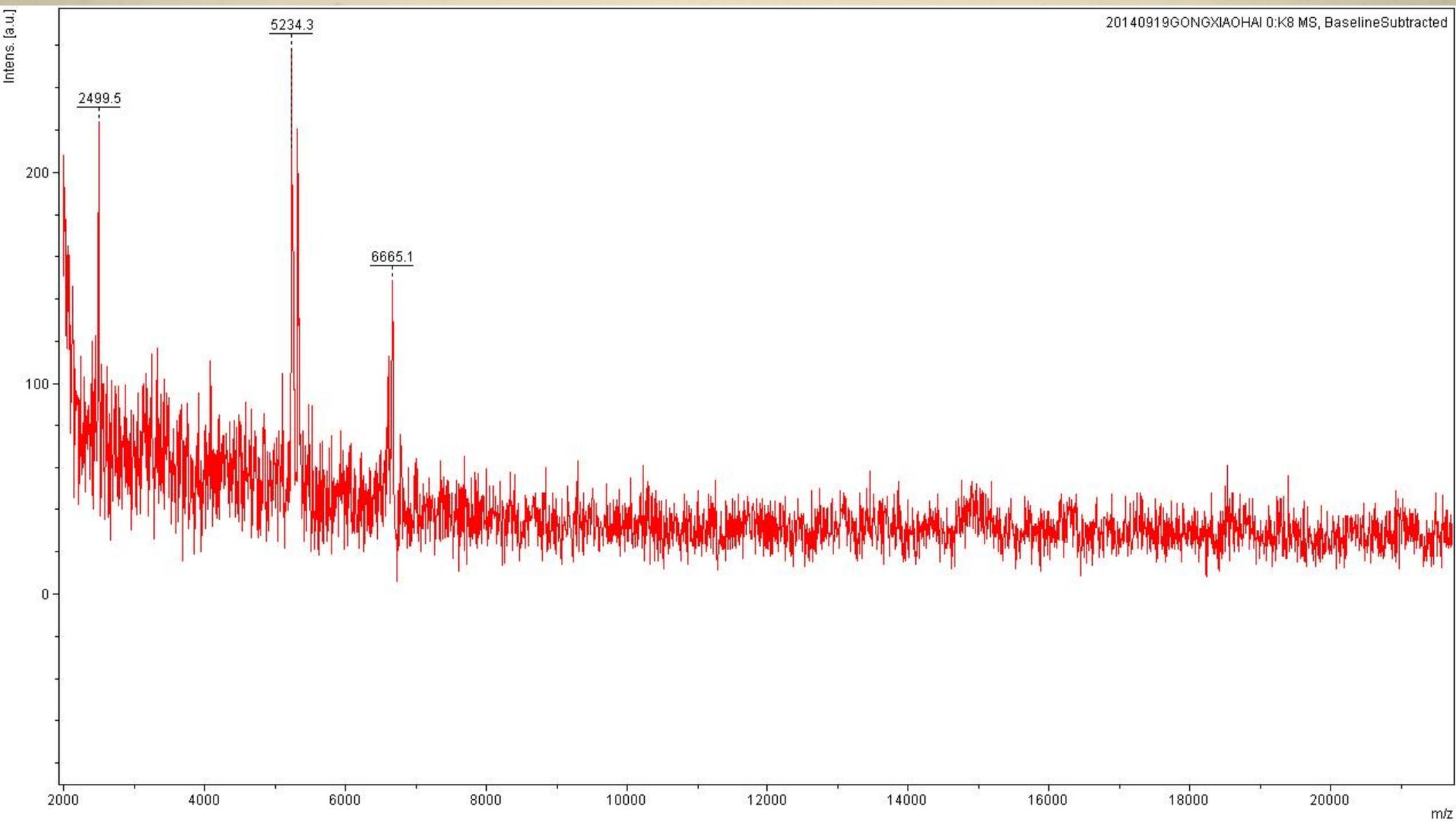
Matched peptides shown in **bold red**.

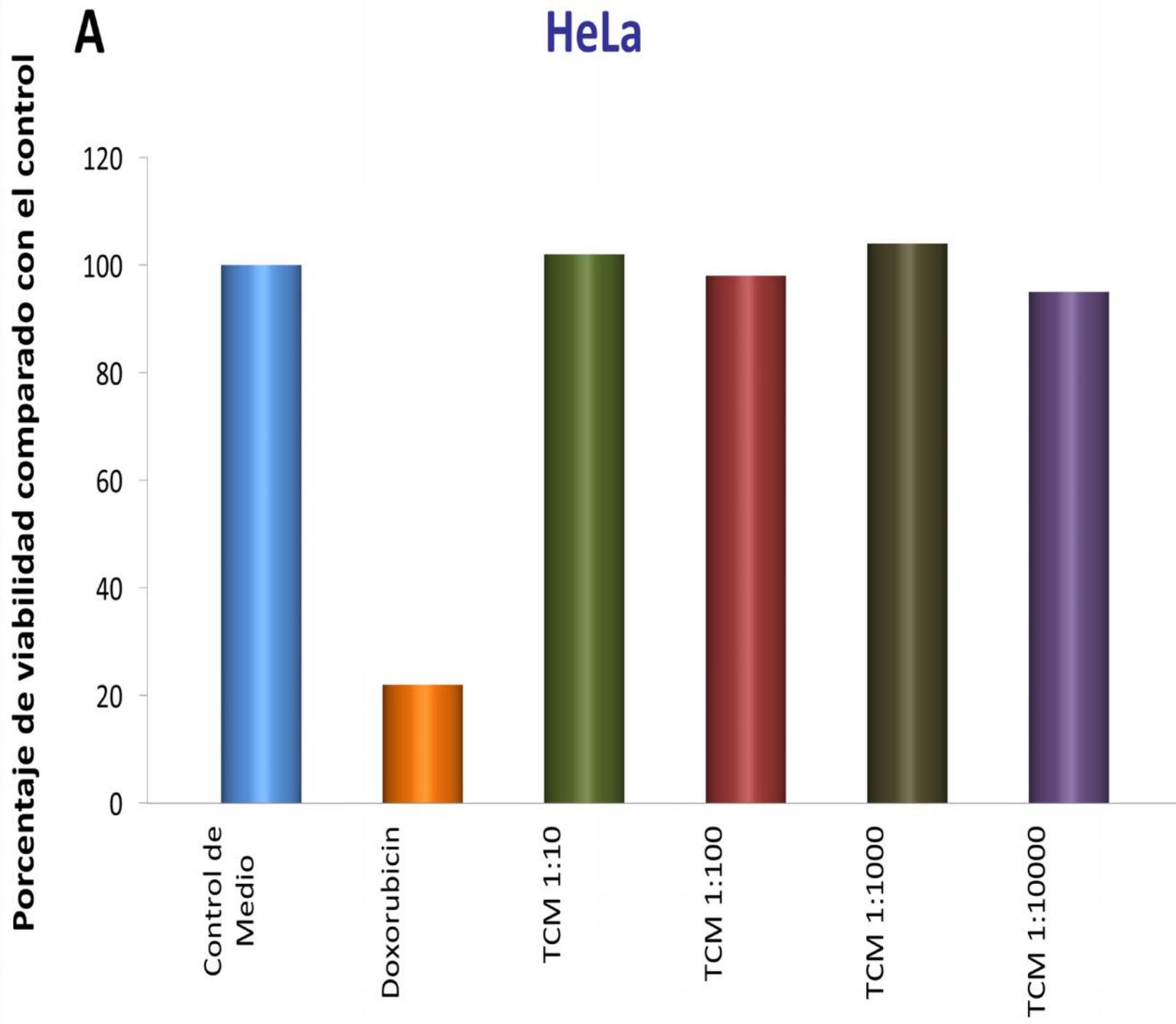
```

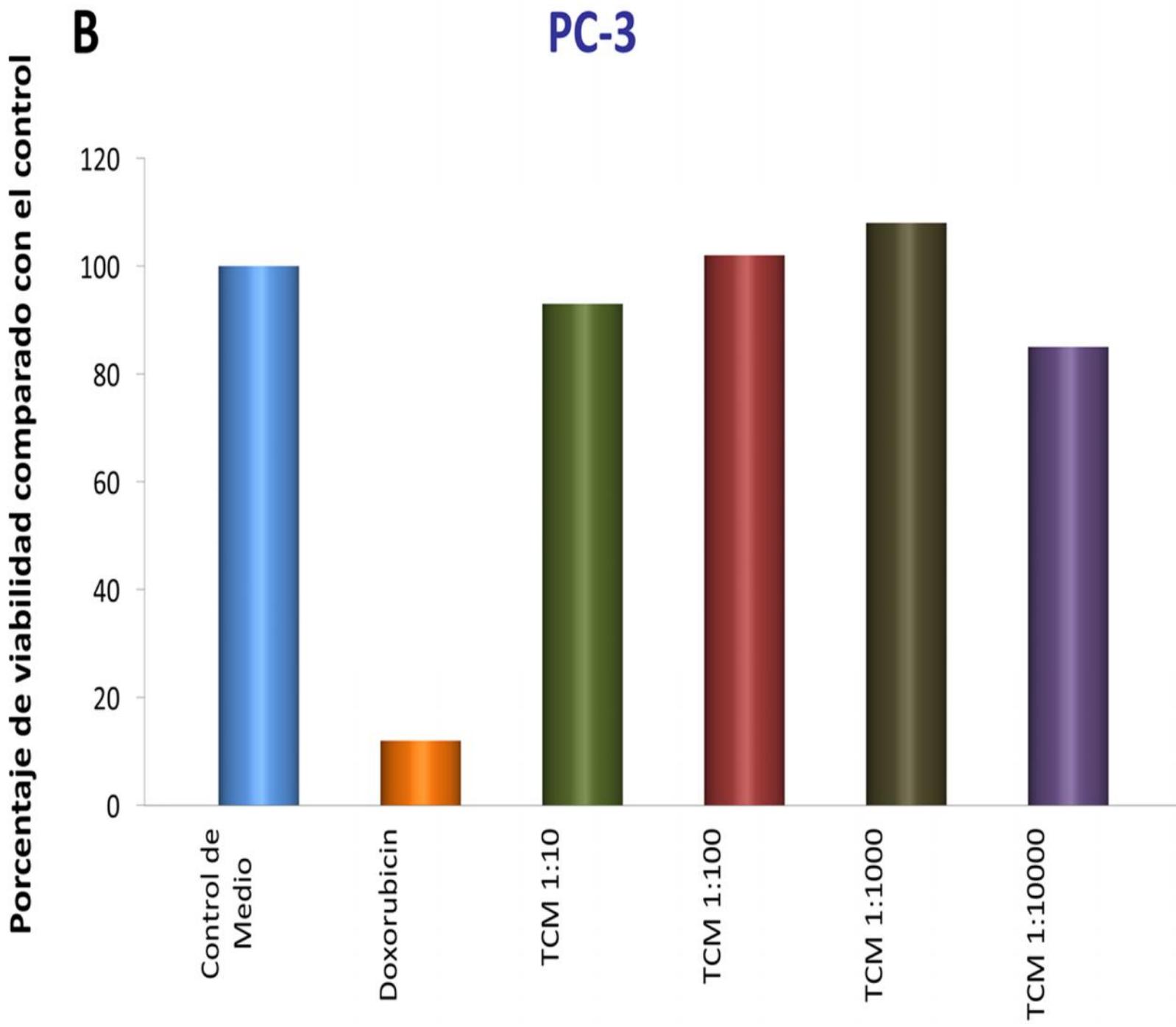
1 MSLTTQEIID AIGSKSVLEI VELIKAMEEA FGVSAAAASA GPAAAAAVVE
51 EQTEFNVLL EAGEKKVNI KAVRELTGLG LKEAKAVVDS APSVVLEAVA
101 KDAADKAKAA LEEAGAKVEL K
  
```

Unformatted sequence string: [121 residues](#) (for pasting into other applications).





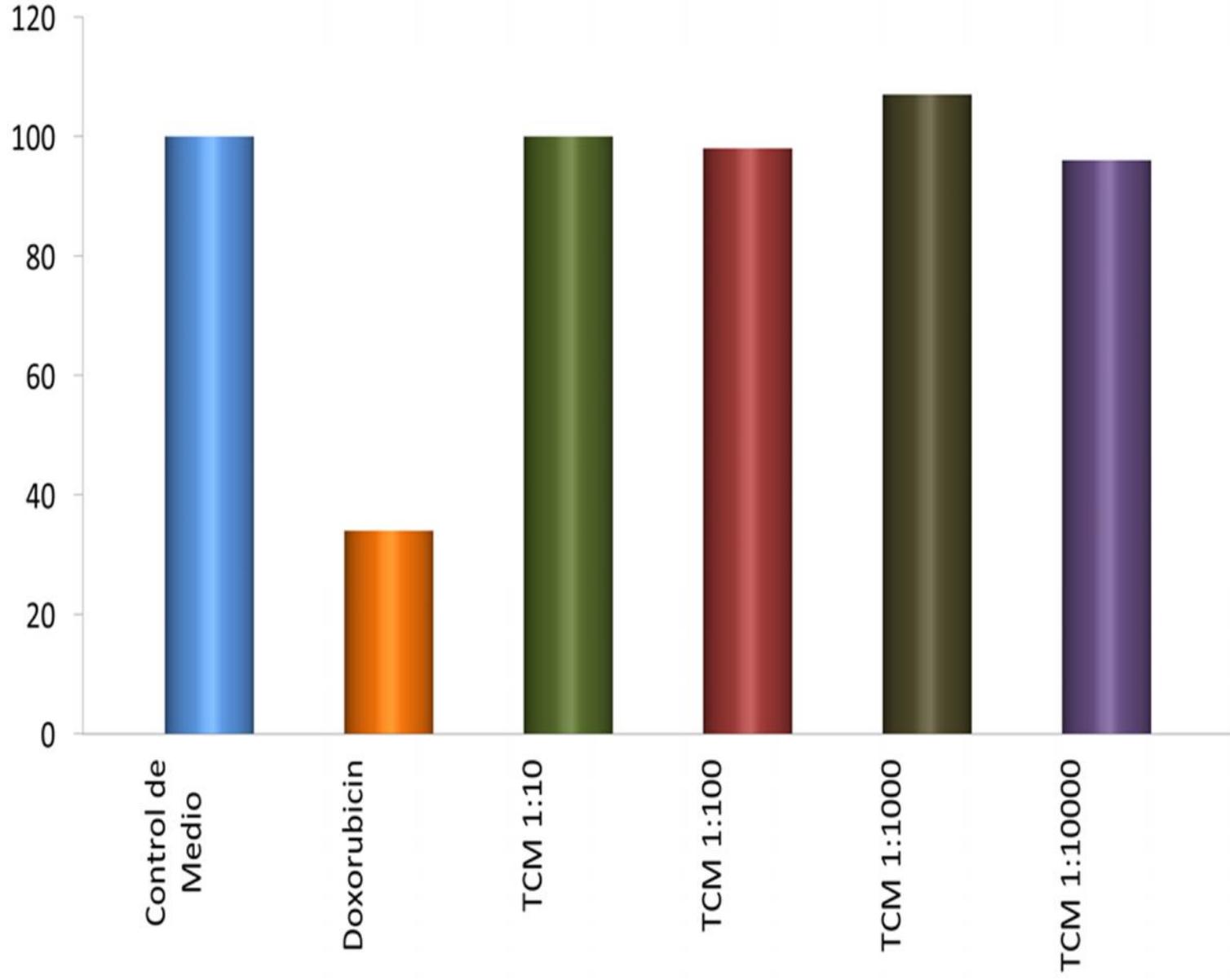


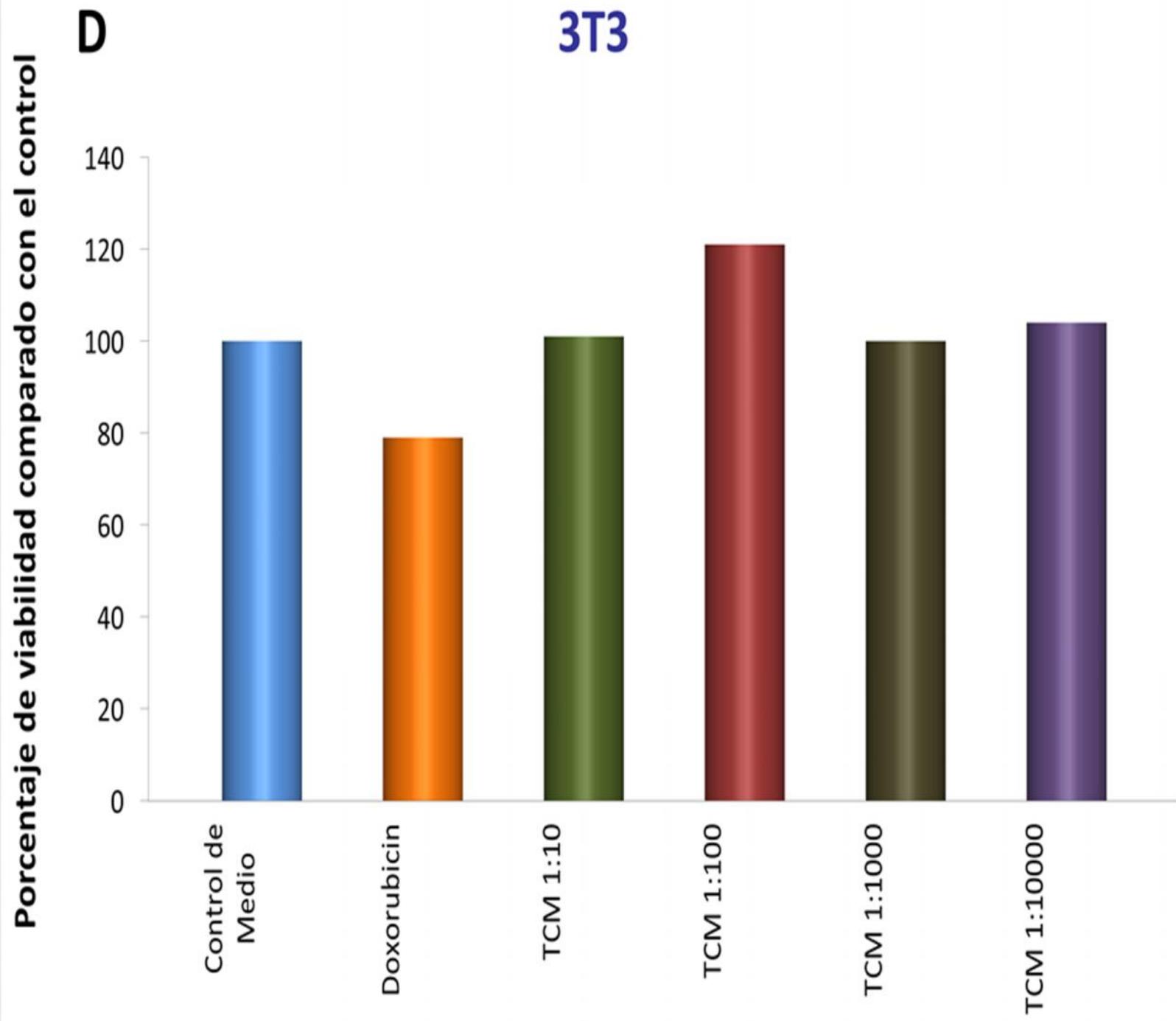


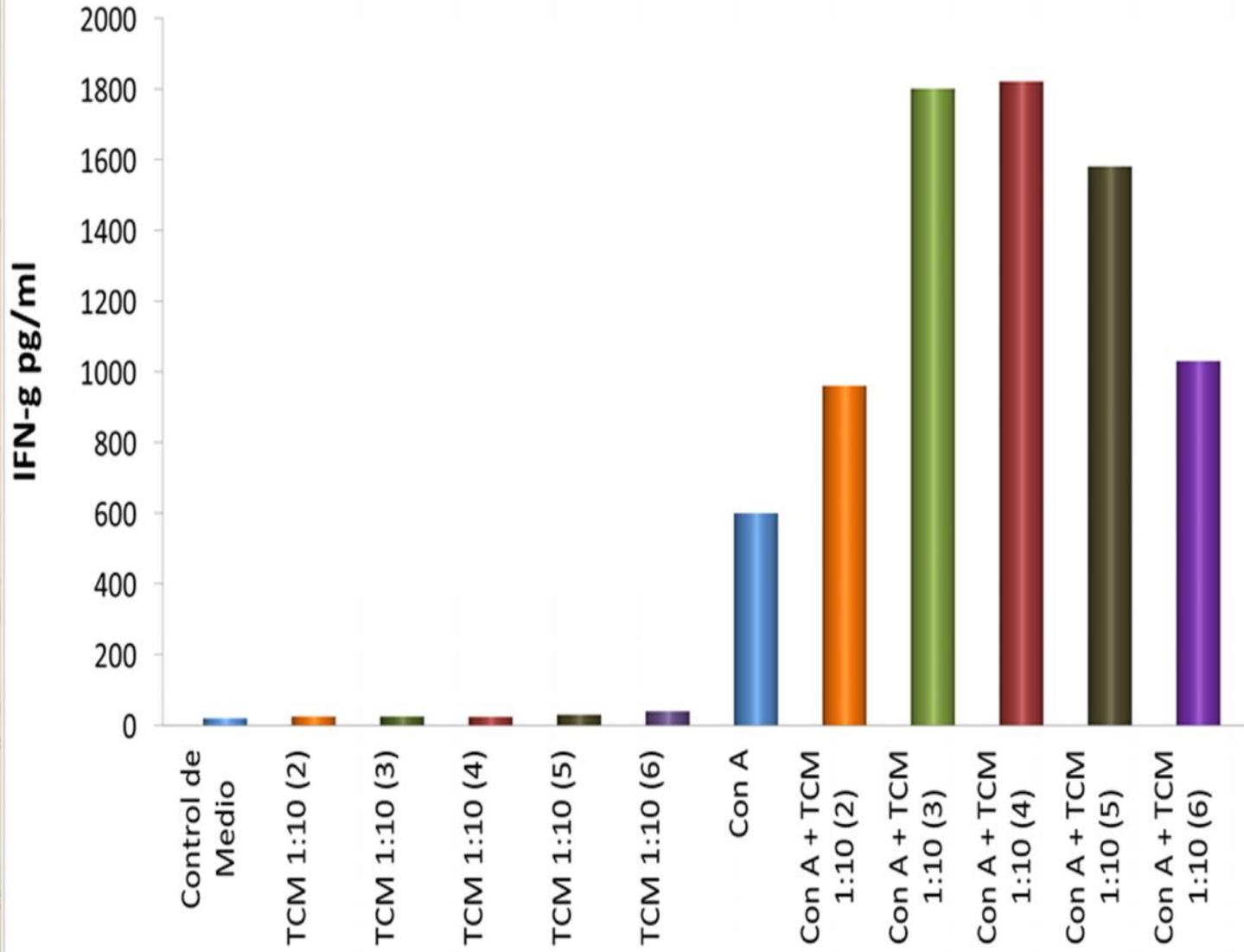
# DU-145

## C

Porcentaje de viabilidad comparado con el control

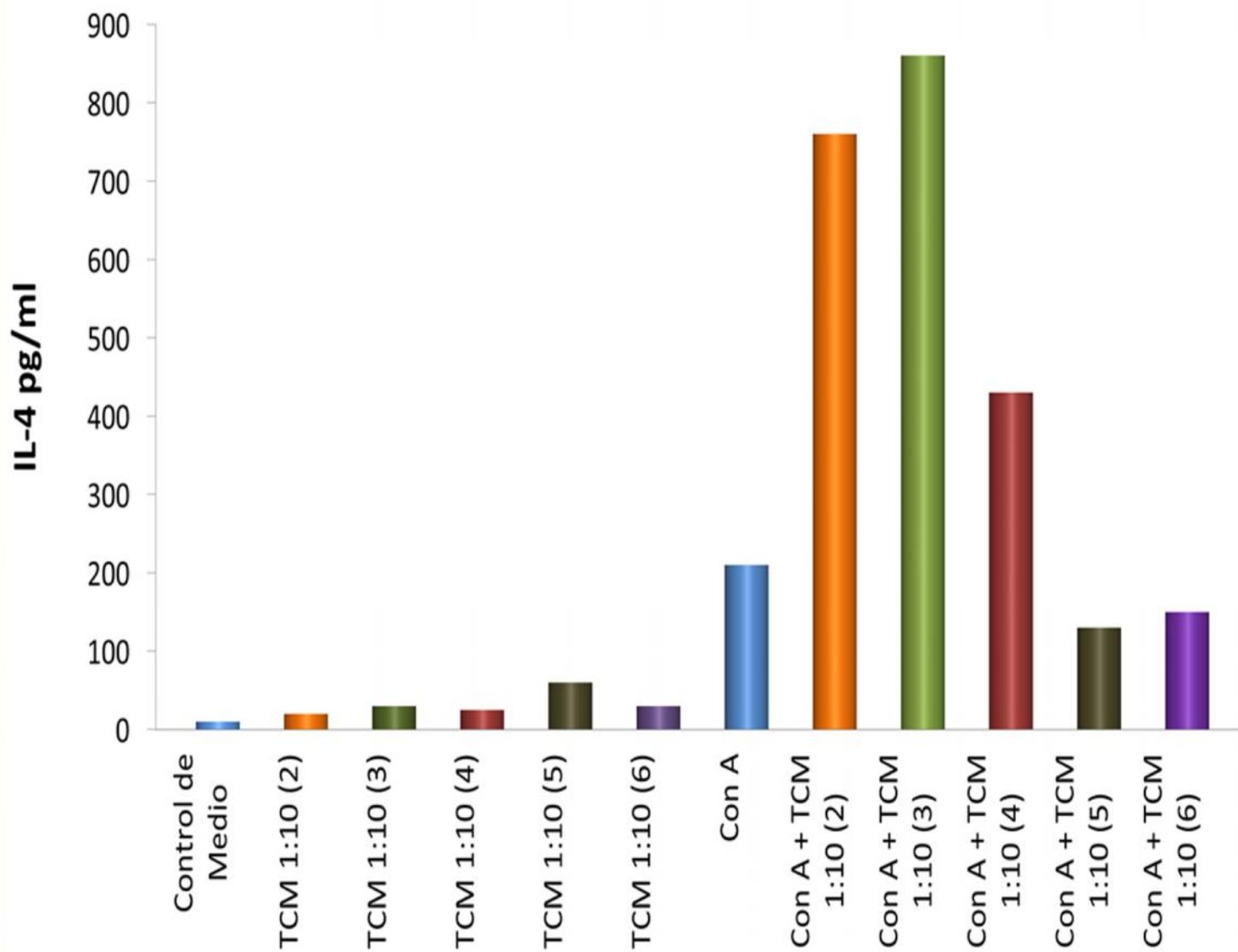


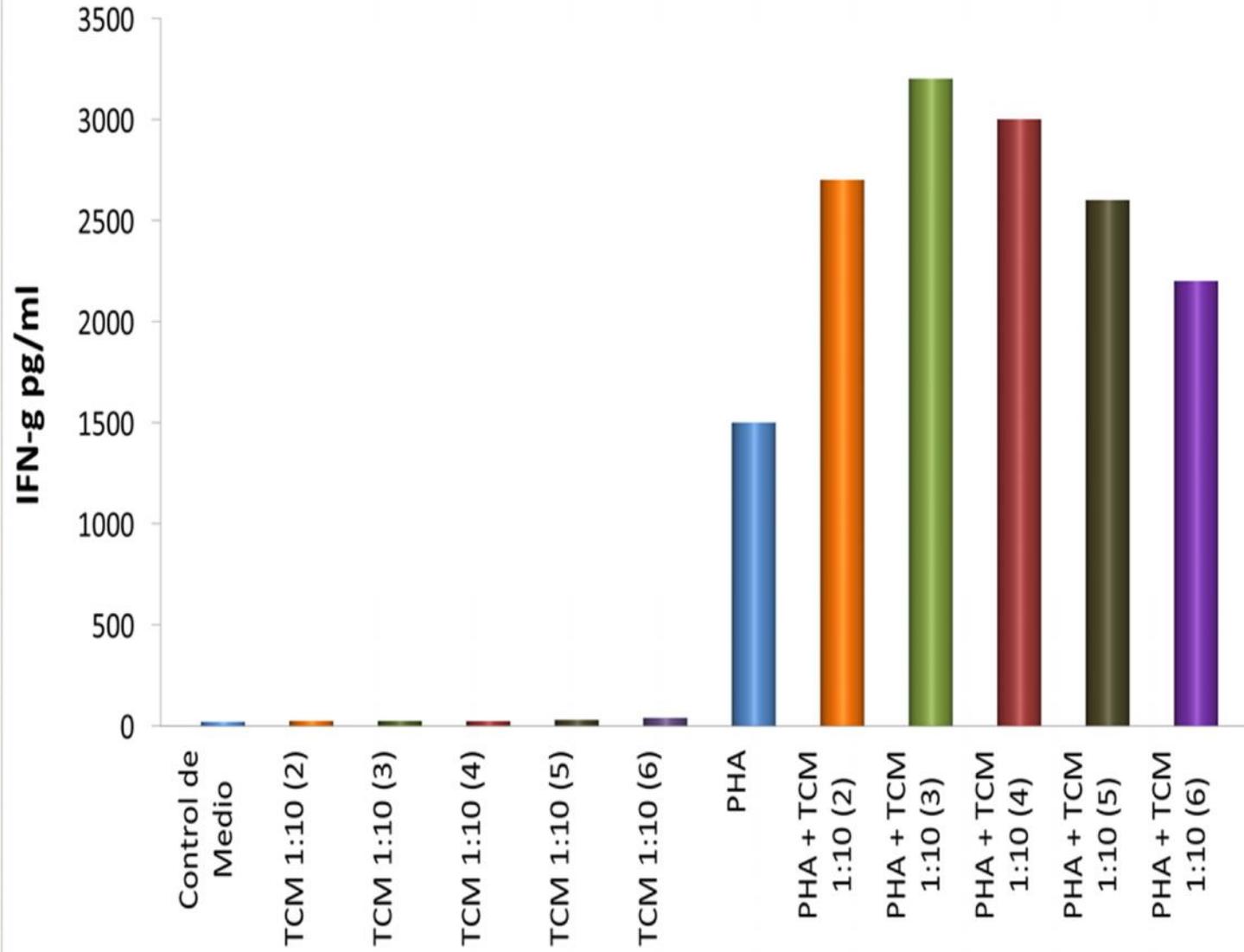


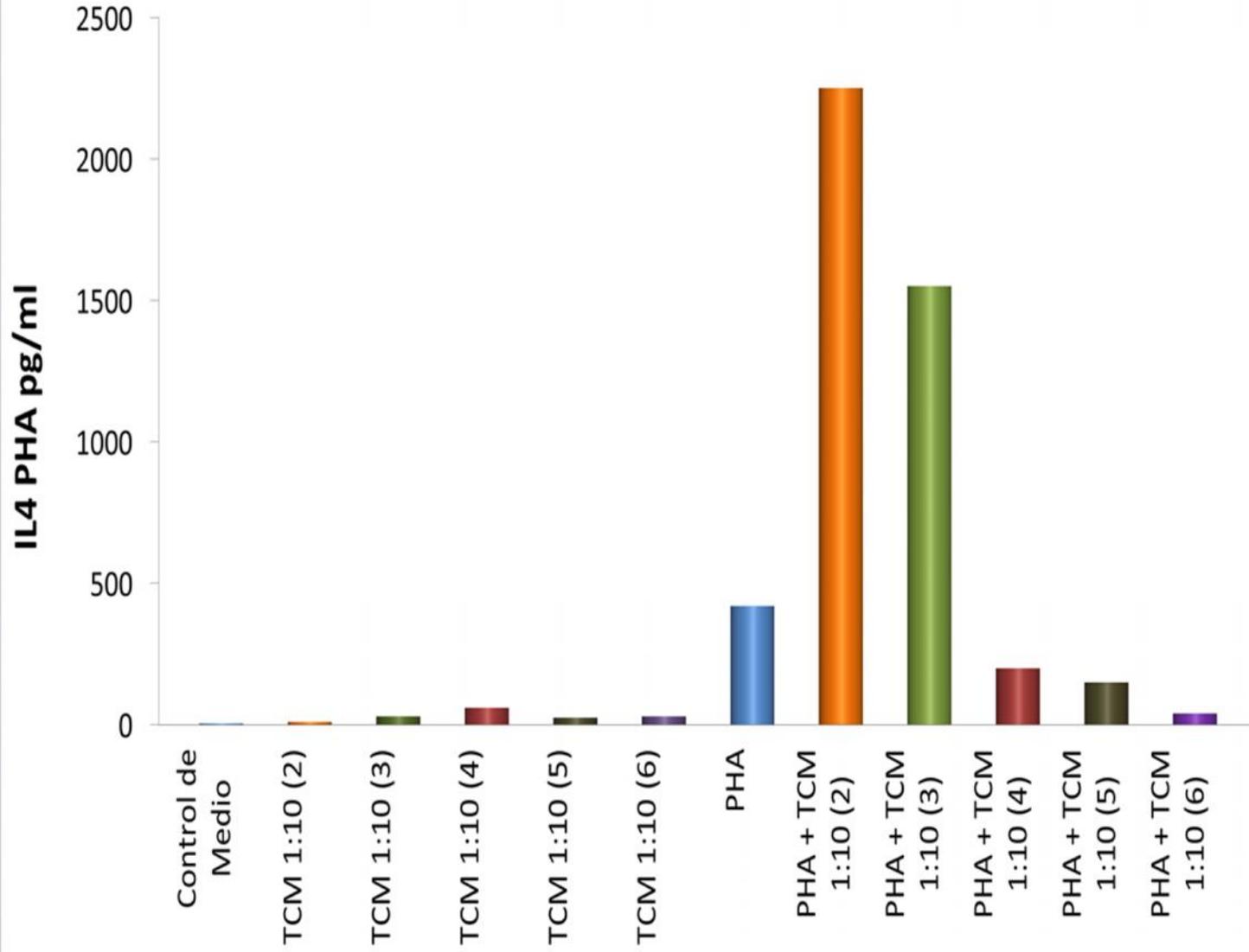
**A****IFN-Gamma Con A estimulación**

**B**

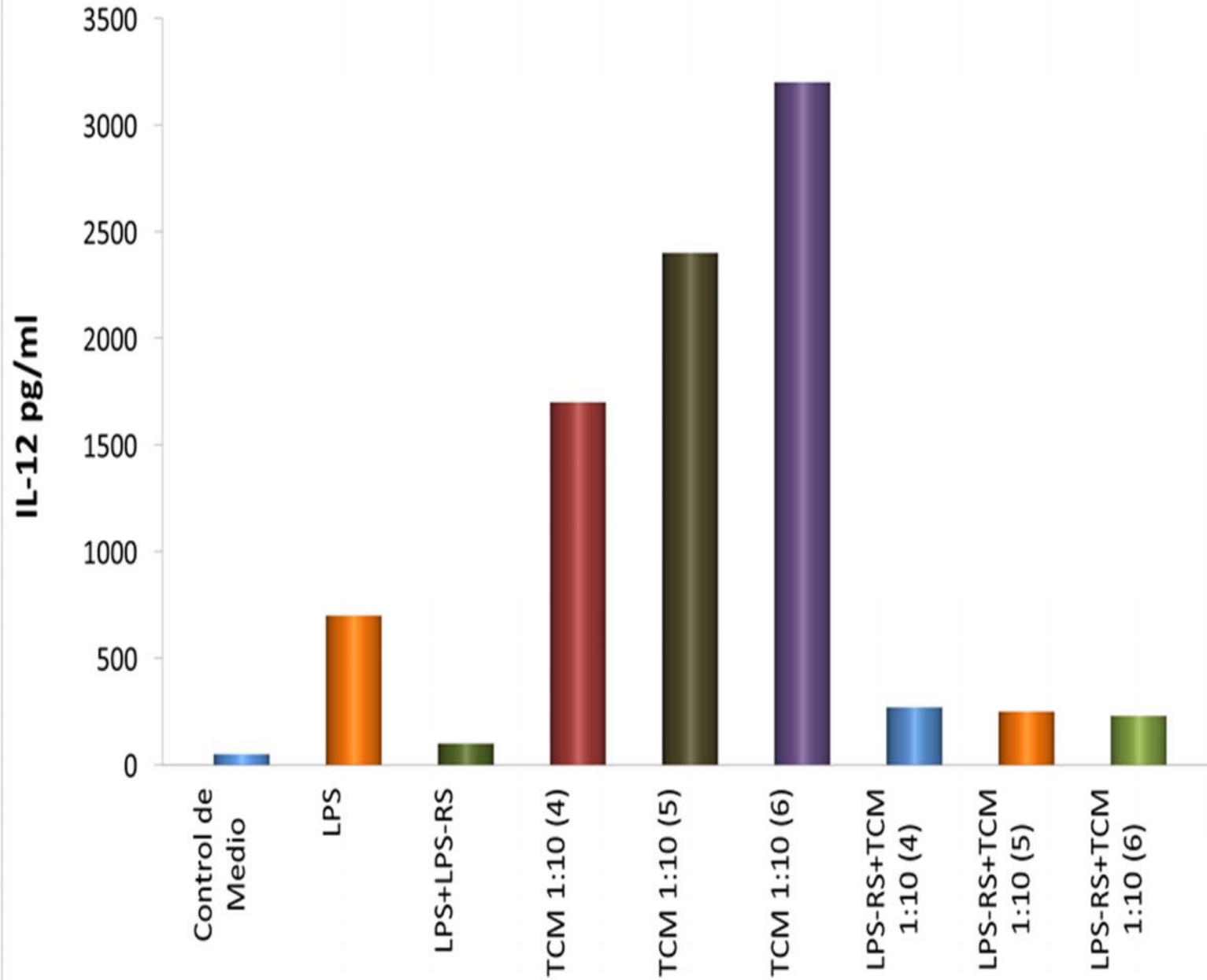
## IL-4 Con A estimulación



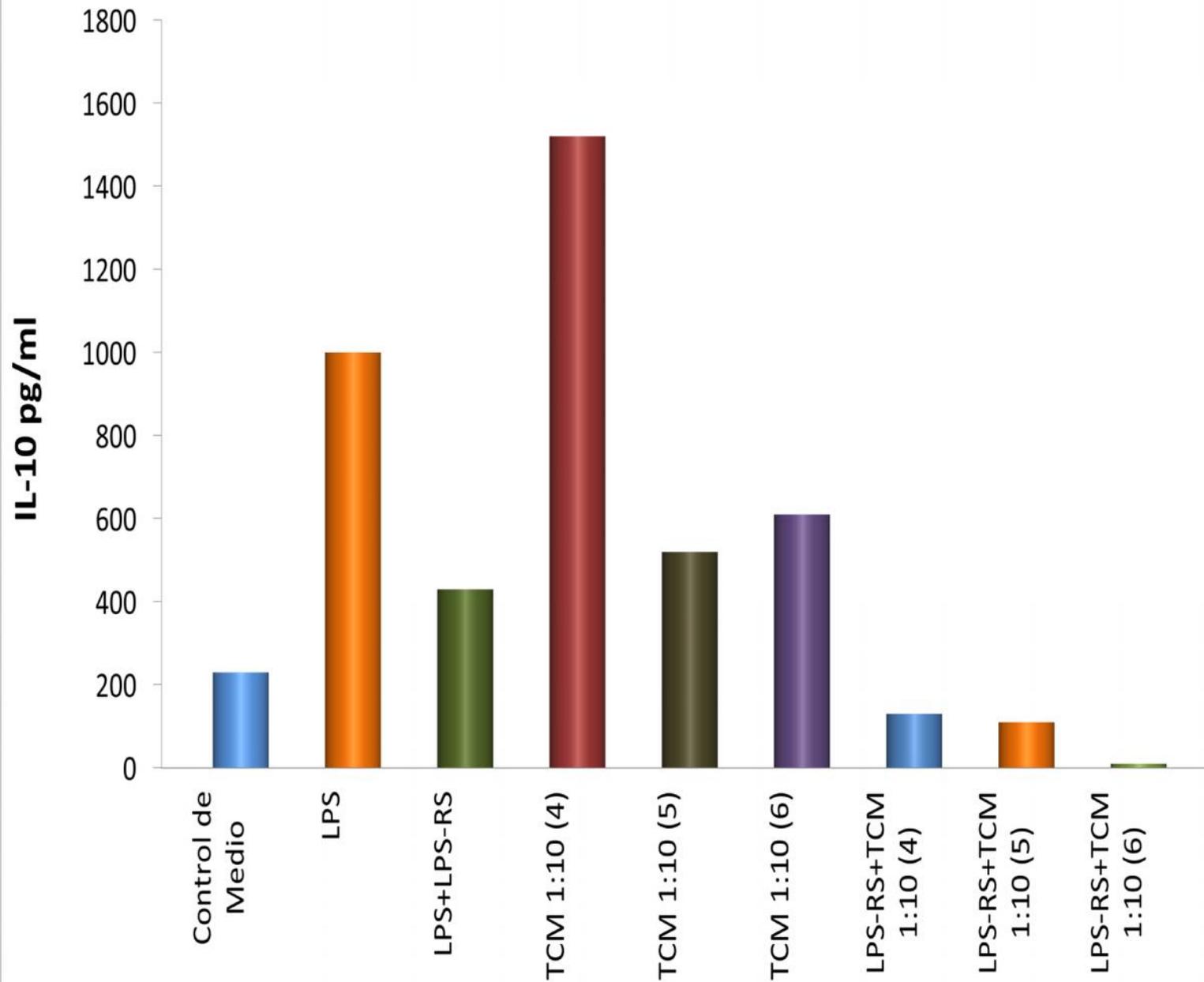
**C****IFN-Gamma PHA estimulación**

**D****IL-4 PHA estimulación**

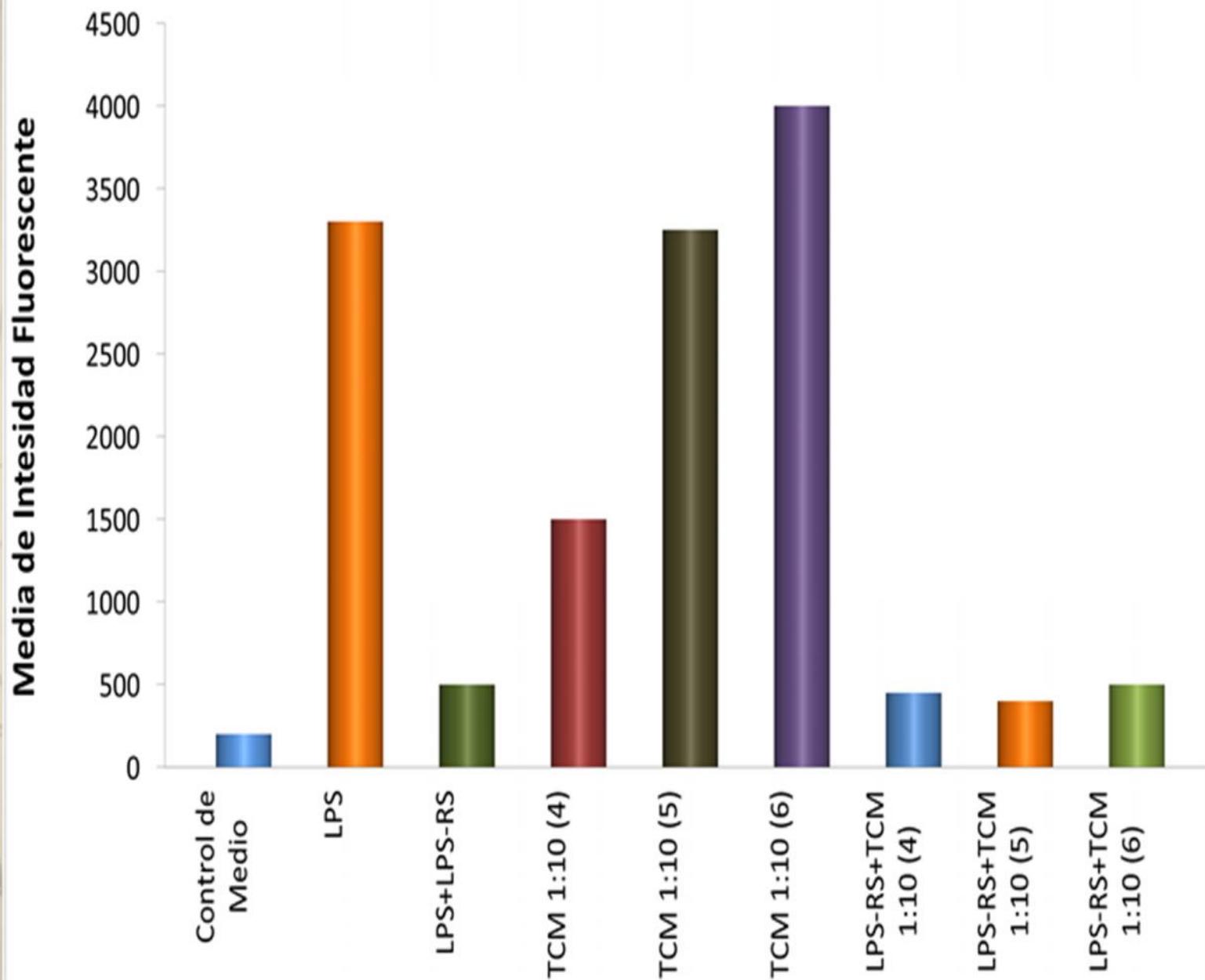
# A TCM induce producción de IL-12 en DC Vía TLR4



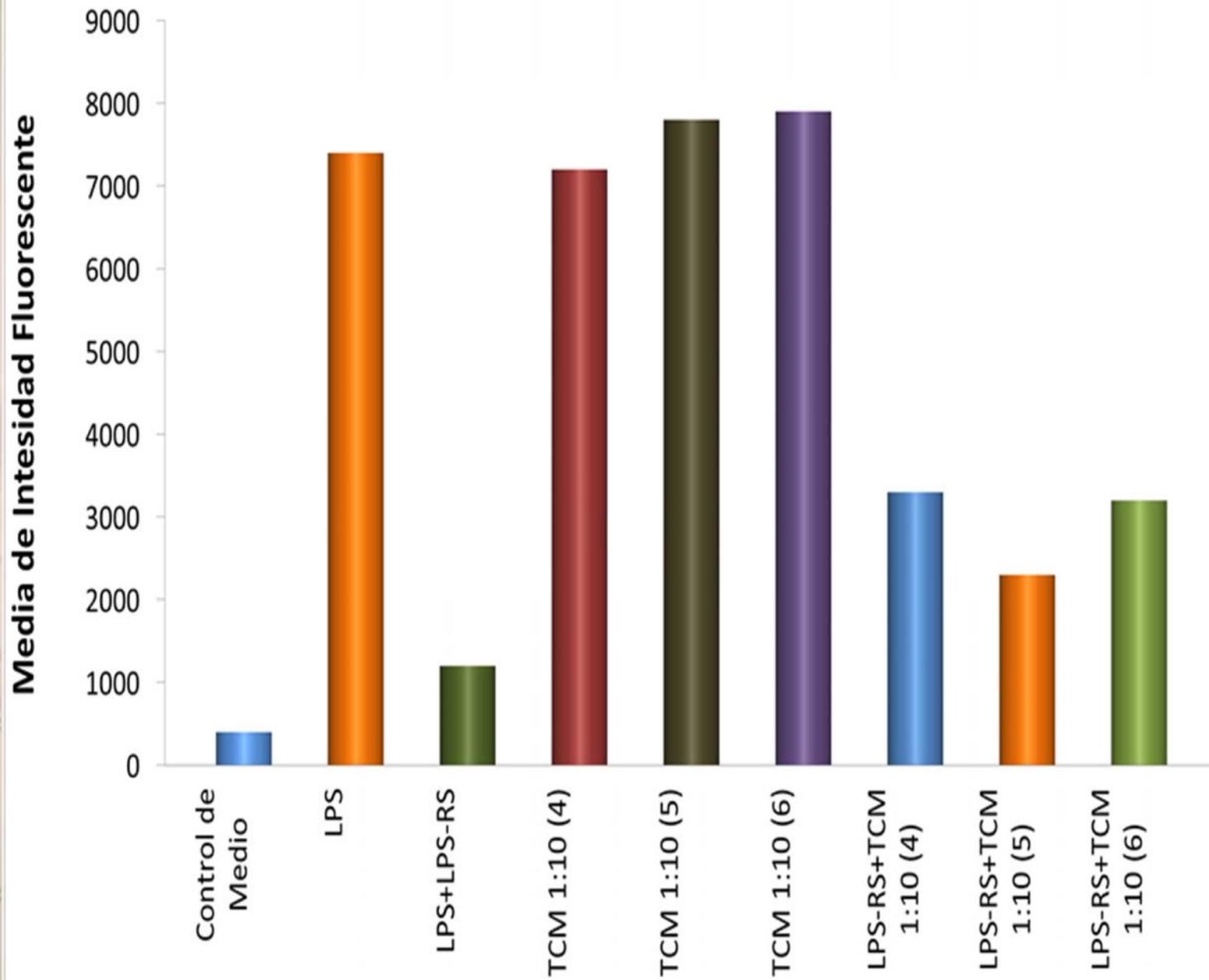
## B TCM induce producción de IL-10 en DC Vía TLR4



# C TCM induce producción de CD80 en DC Vía TLR4



## D TCM induce producción de CD86 en DC Vía TLR4

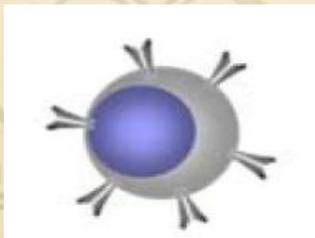


*TCM*

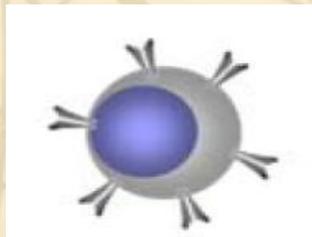
*No citostatico*  
*No citotoxico*



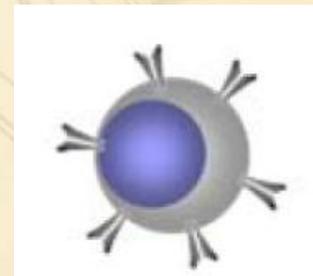
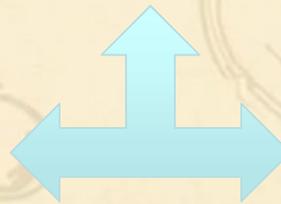
*TLR4(receptor celular)*  
*Maduración*  
*CD80*  
*CD86*



*Treg*

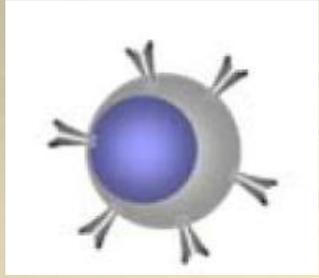


*TH2*



*TH1 (Helper)*

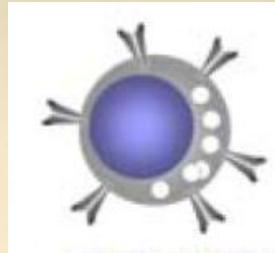
*IL12*



*TH1 (Helper)*



*NK*



*NKT*

*IL4*

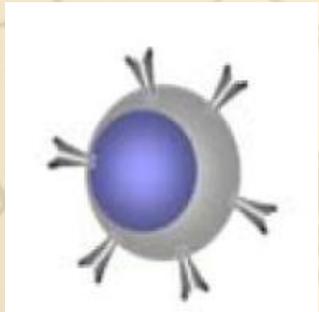
*Replica viral*  
*Control de tumores*  
*Activador de macrofagos*  
*autoinflamatoria*  
*autoinmune*

*IFN $\gamma$*

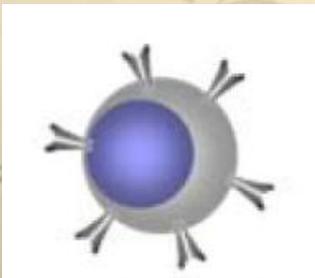
*IL4*

*IL10*

*(Factor inhibidor de citocinas)*



*Treg*



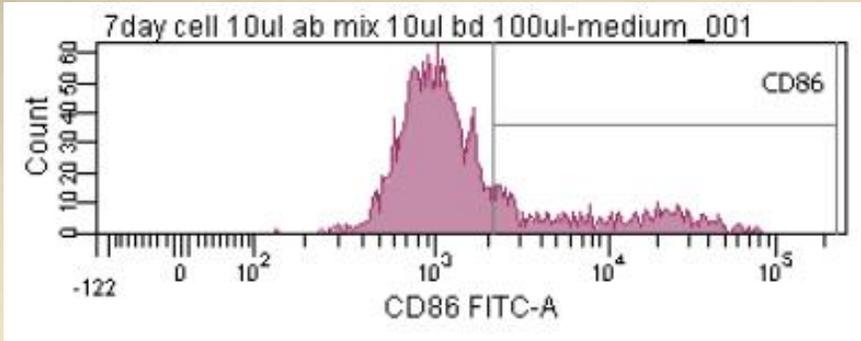
*TH2*

## Exp 2015-08-21

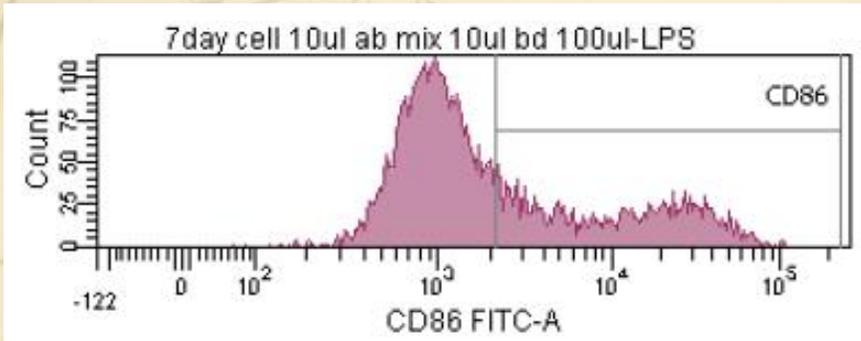
- Donor 1 (Marina Chulkina), 10ml EDTA blood, Ficoll-Histopaque-1077 (Sigma #10771)
- Obtained 14 mln PMNC, resuspended in 16 ml RPMI with 10% FBS (HyClone RYD35910)
  - Placed in 2ml x 8wells (12-well plate Nunclon #150628)
- 2h adhesion, nonadhesive cells were gently discarded and culture medium was replaced
  - Added 100 ng/ml GM-CSF (R&D systems Lot 215-GM-050) and 20 ng/ml IL-4 (R&D systems Lot 204-IL-050)
  - On day 2 and 4 culture medium was replaced and GM-CSF /IL-4 added
- On day 5 add LPS 100 ng/ml (LPS Sigma L-4524 E.c.055:B5 Lot #093M4002V) was added in 4 wells
  - Imm Lot 291009 1,4 ug/ml added into 2 wells
  - On day 6 TCM 1 ul/3 ml added into 2 well with LPS
- On day 7 – labeling with fluo-MoAb followed with cytometry (percent of labeled cells and MFI)

# CD86

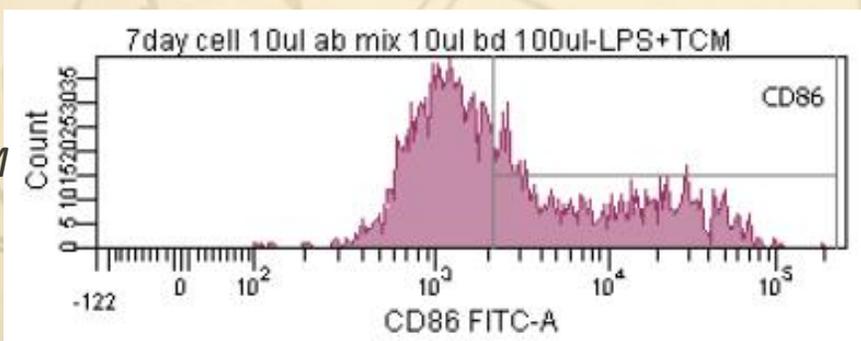
Medium



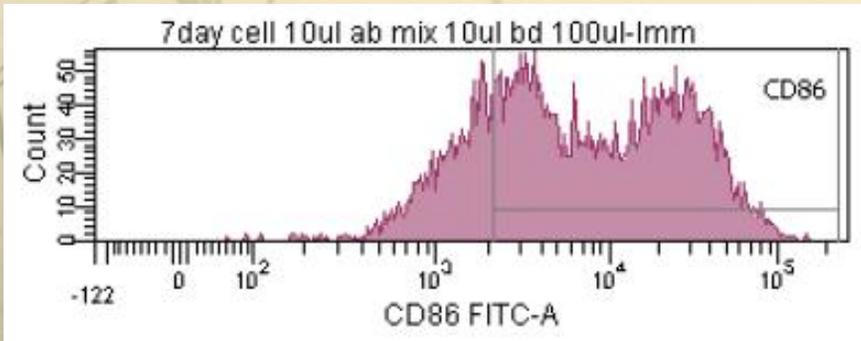
LPS



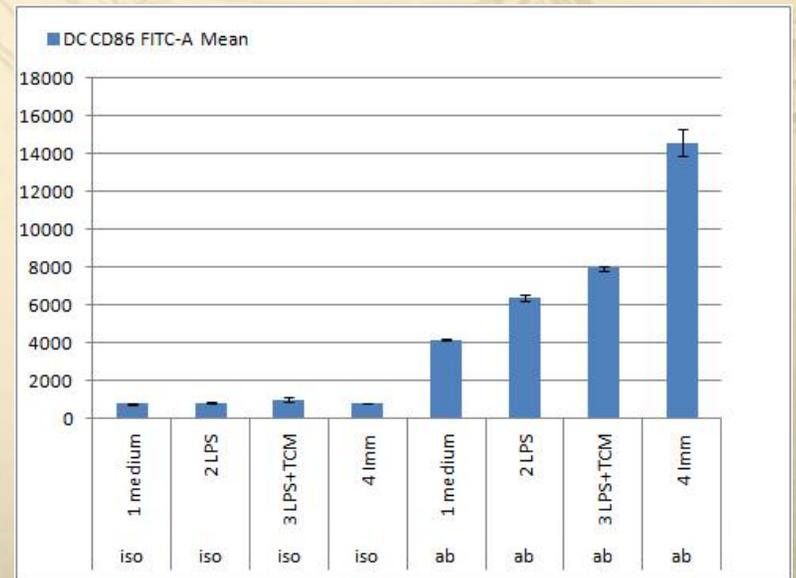
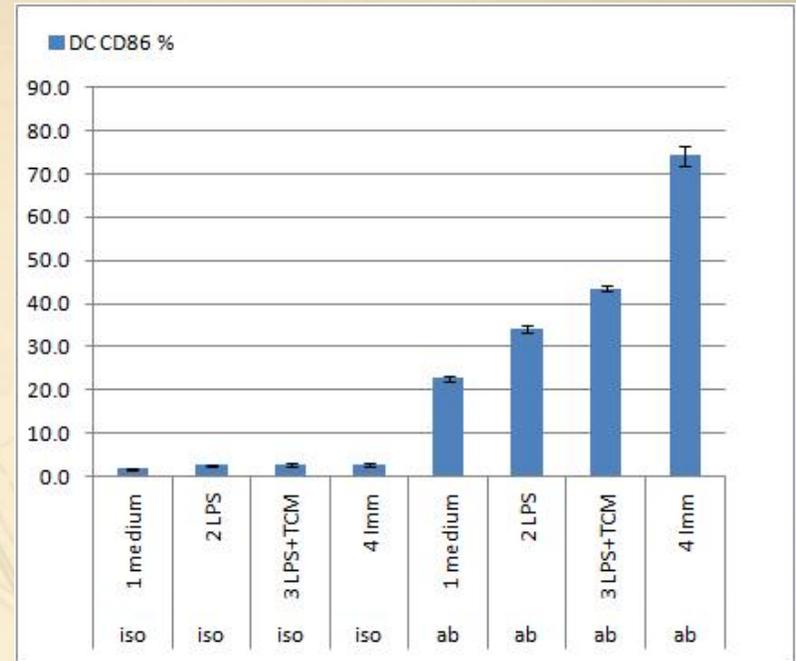
LPS+TCM



Imm

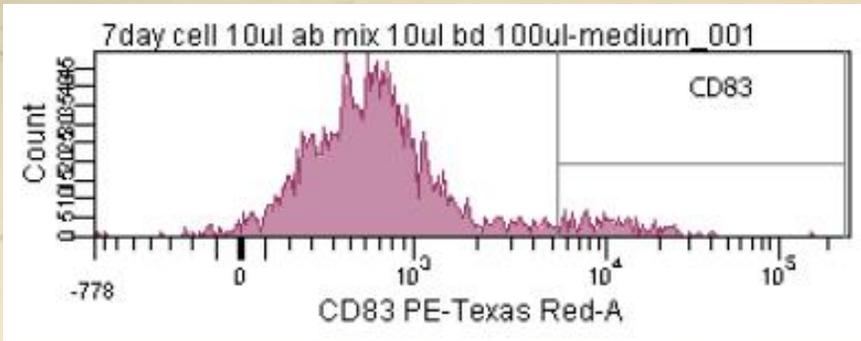


Mean +\_SD  
(isotype control – the left four bars)

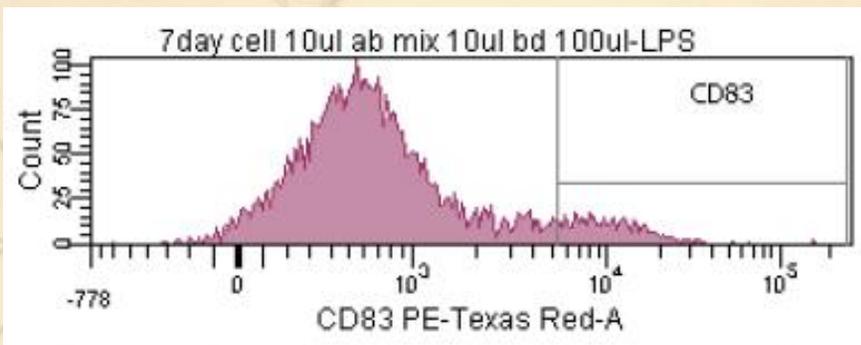


# CD83

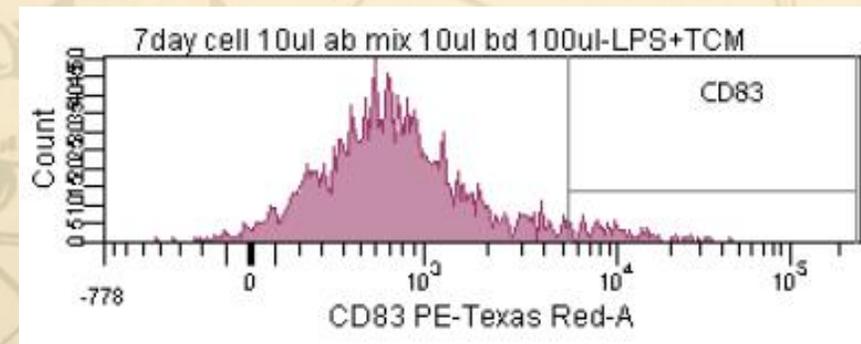
Medium



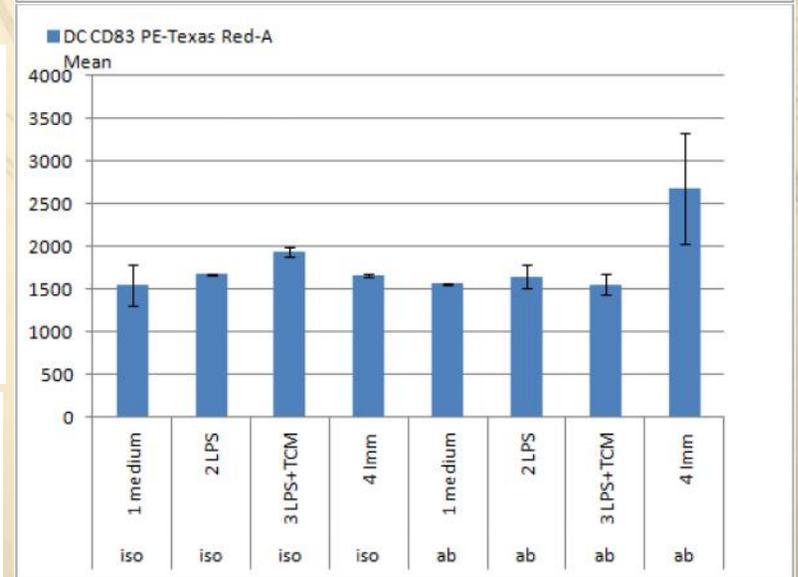
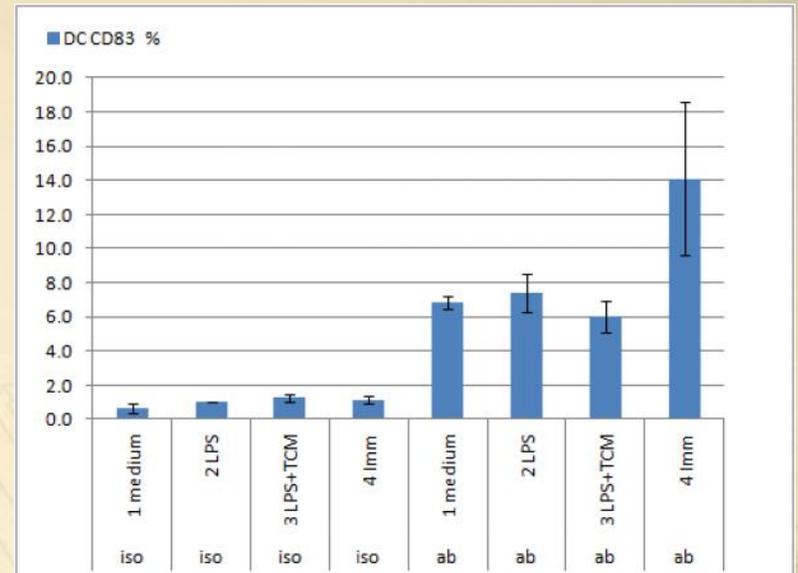
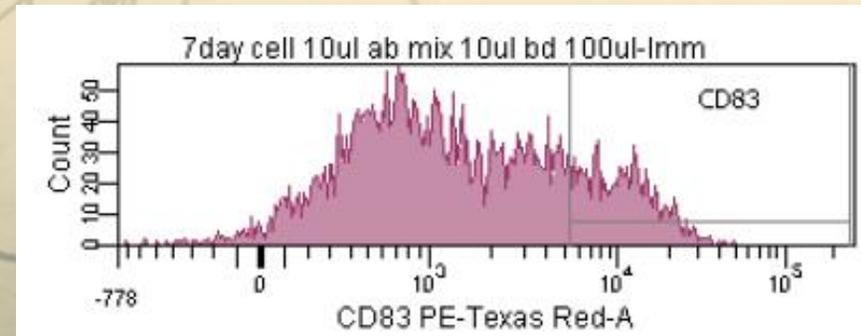
LPS



LPS+TCM

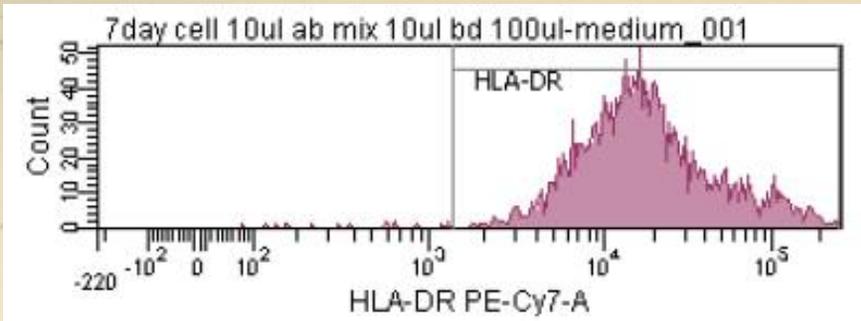


Imm

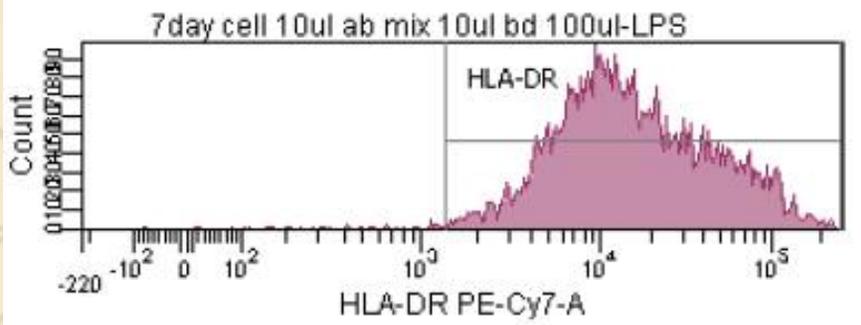


# HLA-DR

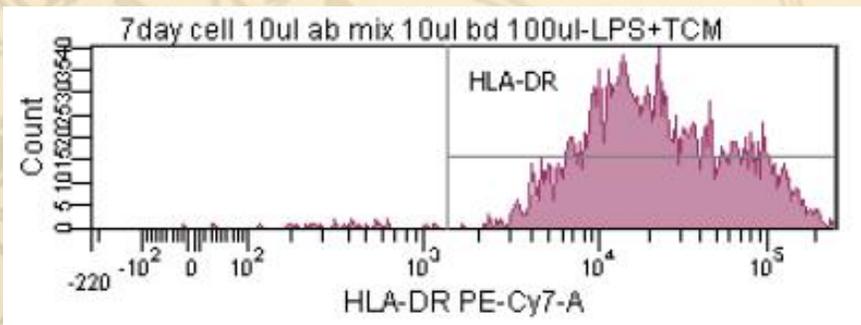
Medium



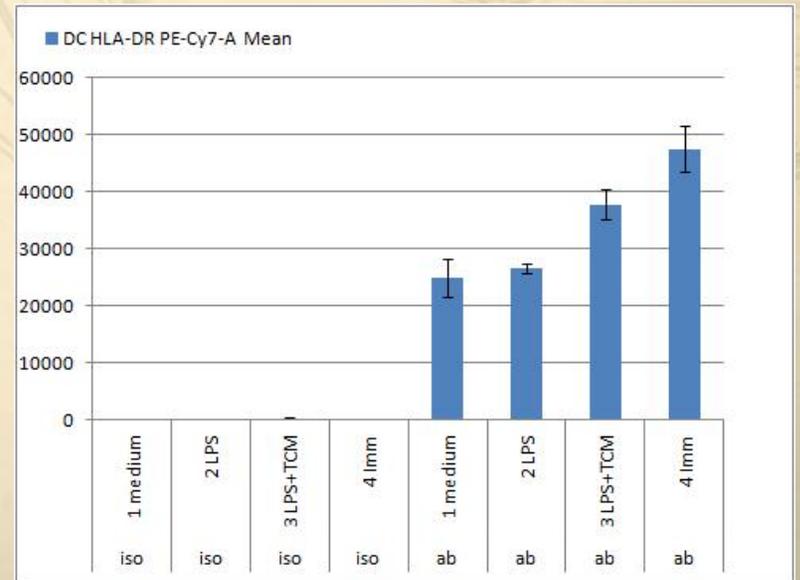
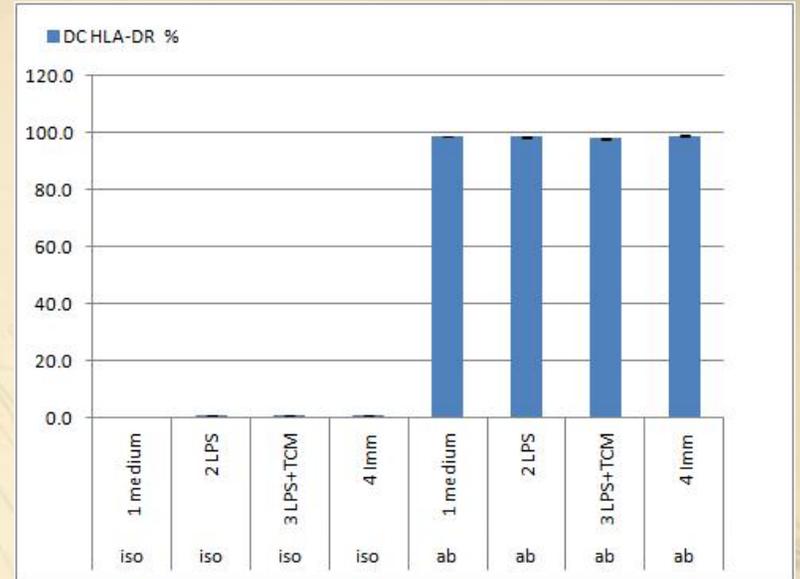
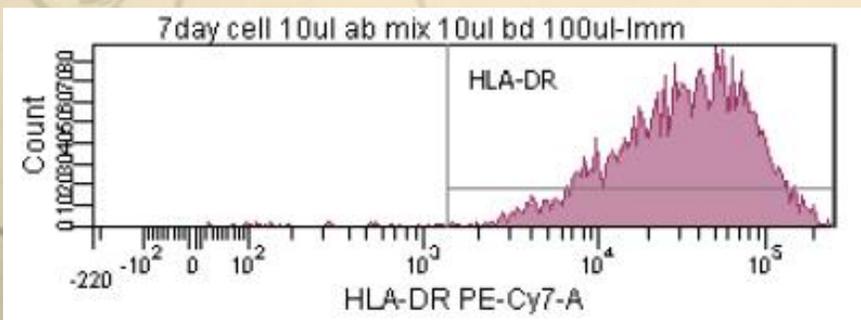
LPS



LPS+TCM

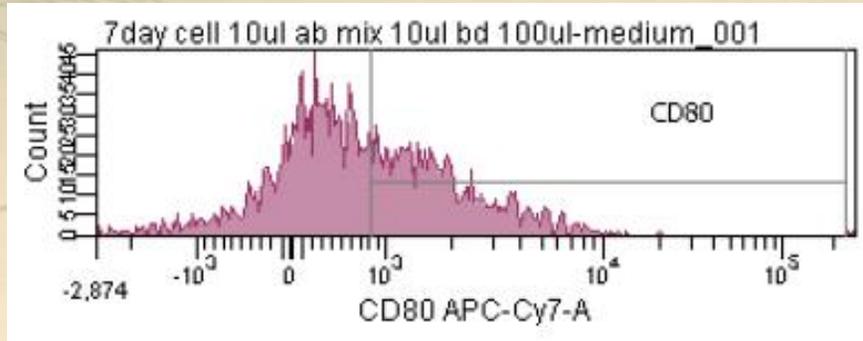


Imm

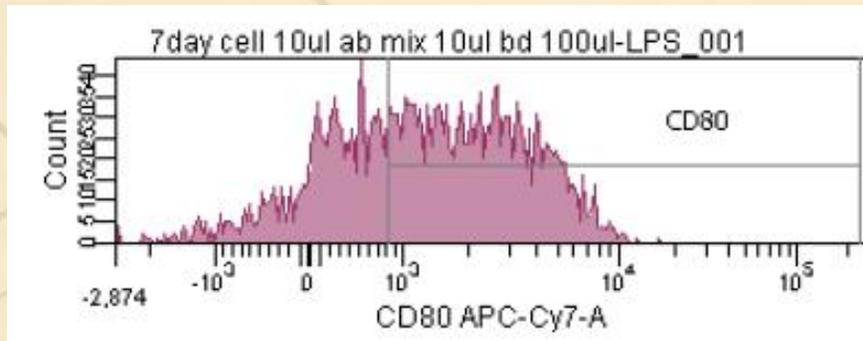


# CD80

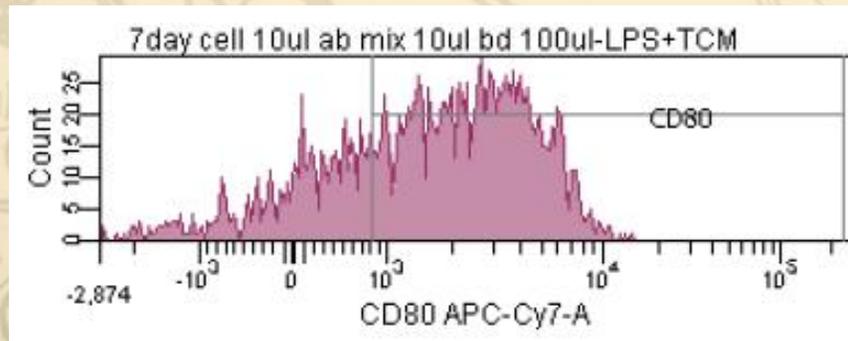
Medium



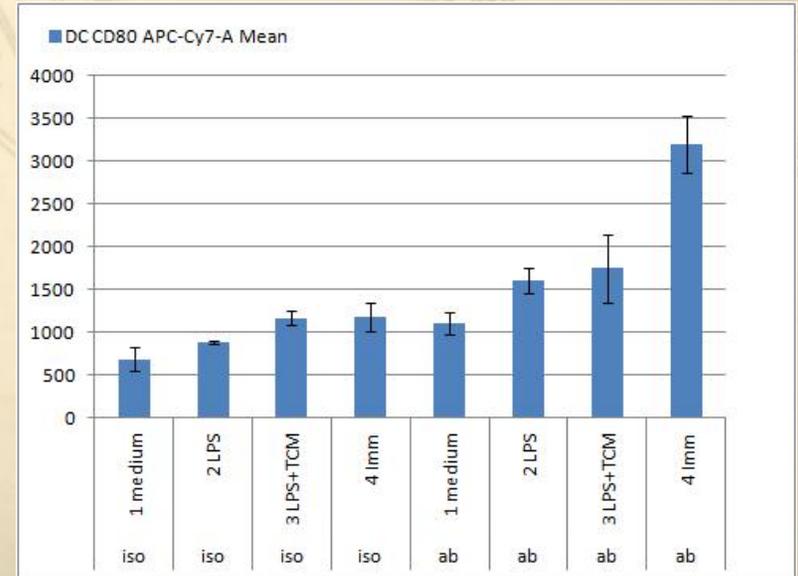
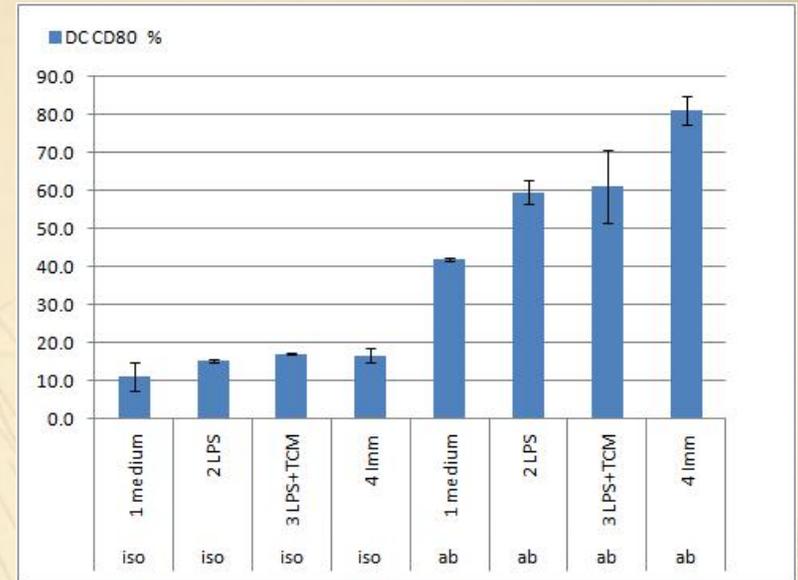
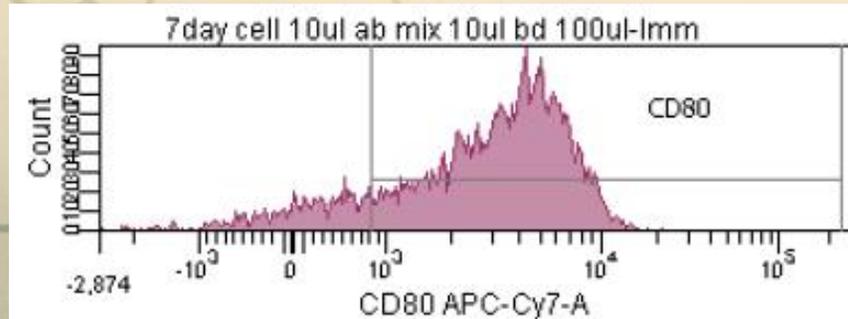
LPS



LPS+TCM



Imm

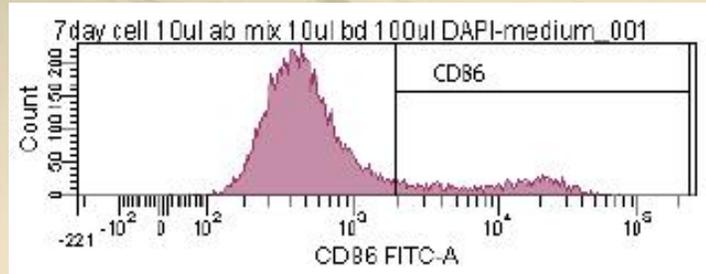


*Exp 2015-08-26*

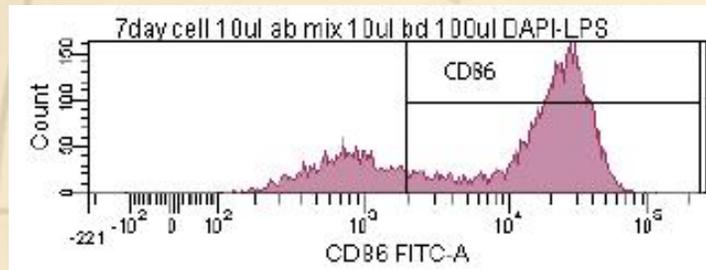
- *Donor 2 (R), 50ml EDTA blood, Ficoll-1077 (Paneco #P052)*
- *65mln PMNC in 16 ml RPMI with 10% FBS (HyClone RYD35910)*
  - *2ml x 8well (12 well plate Nunclon #150628)*
  - *2h adhesion, non-adhesive cells were gently discarded*
- *100 ng/ml GM-CSF (R&D systems Lot 215-GM-050) and 20 ng/ml IL-4 (R&D systems Lot 204-IL-050) were added*
- *On day 2 and 4 culture medium was replaced, add GM-CSF/IL-4 were added*
- *On day 5 add LPS 100 ng/ml (LPS Sigma L-4524 E.c.055:B5 Lot #093M4002V) Imm Lot 291009 1,4 ug/ml*
  - *On day 6 TCM 1 ul/3 ml*
  - *On day 7 test cytometry*

# CD86

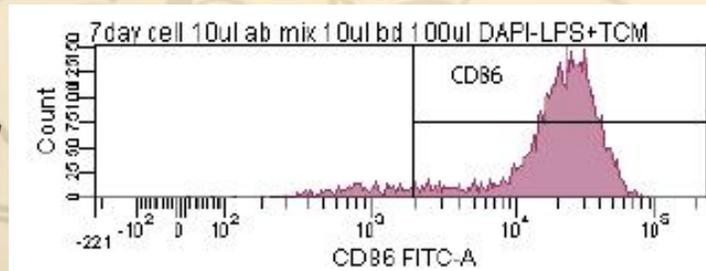
Medium



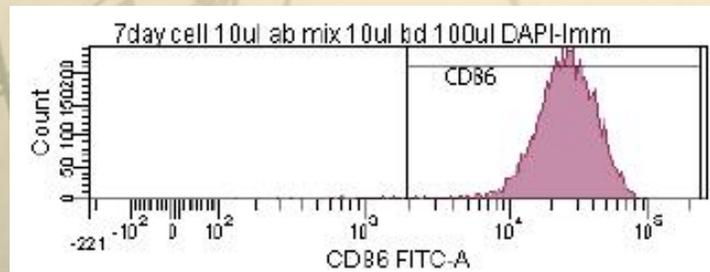
LPS



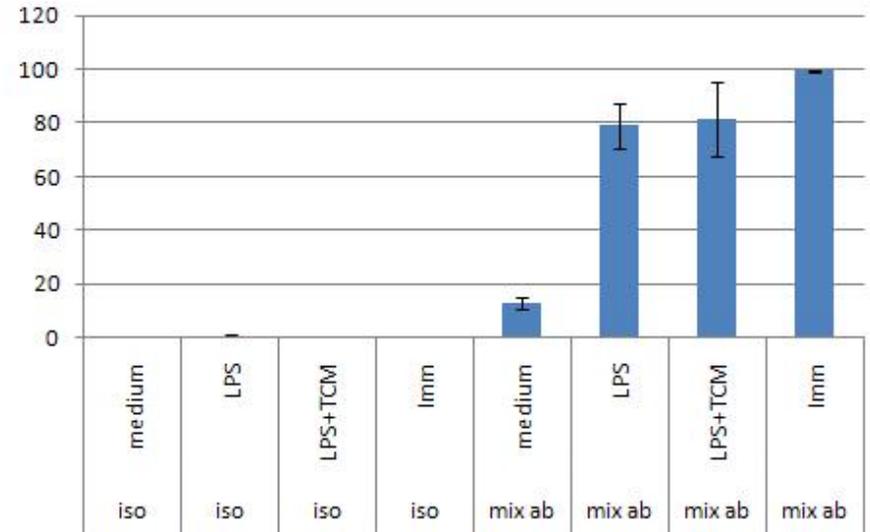
LPS+TCM



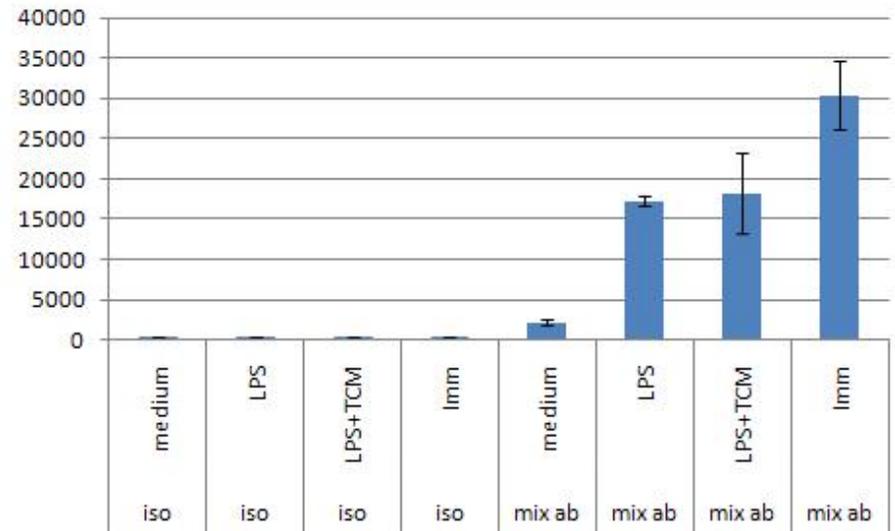
Imm



CD86 %

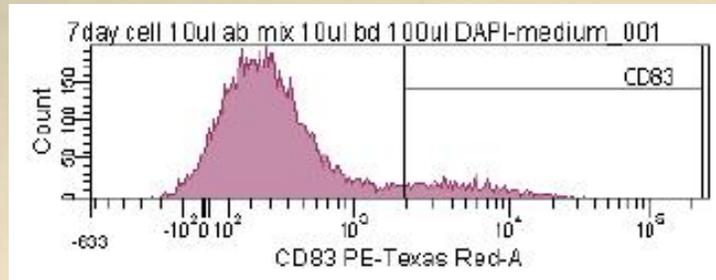


DC CD86 FITC-A Mean

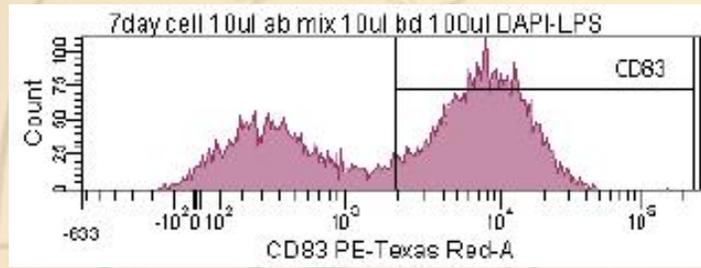


# CD83

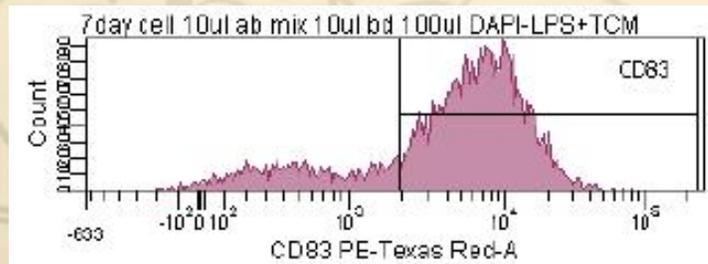
Medium



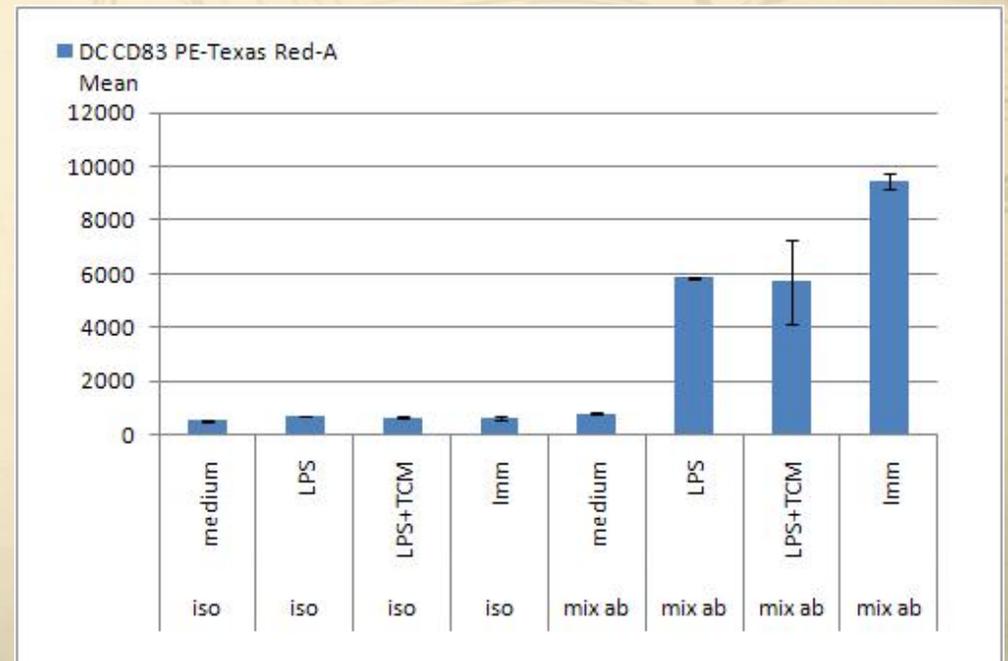
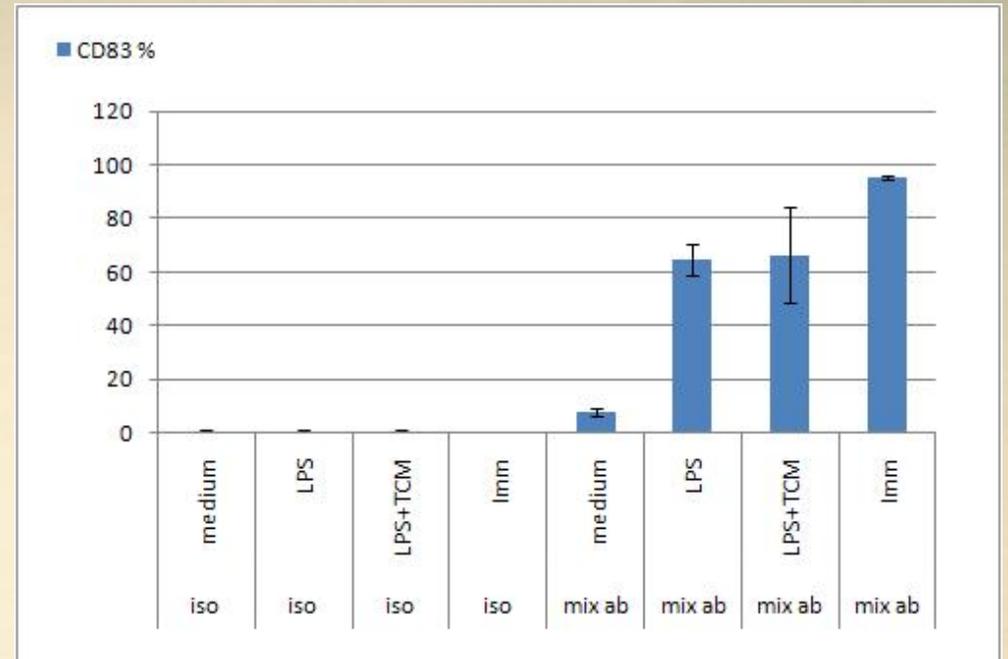
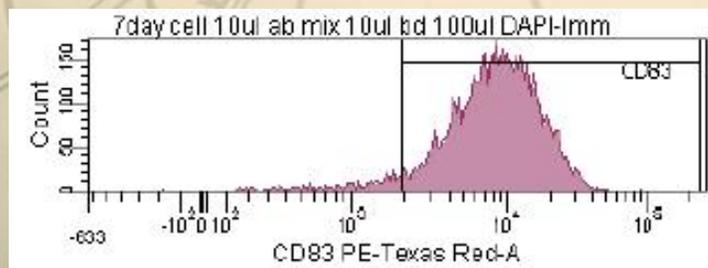
LPS



LPS+TCM

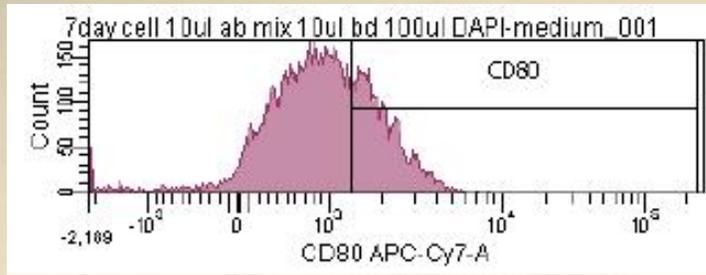


Imm

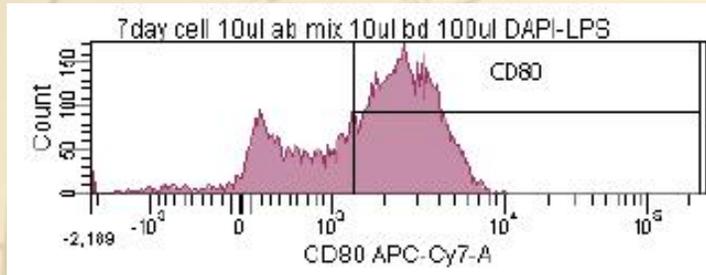


# CD80

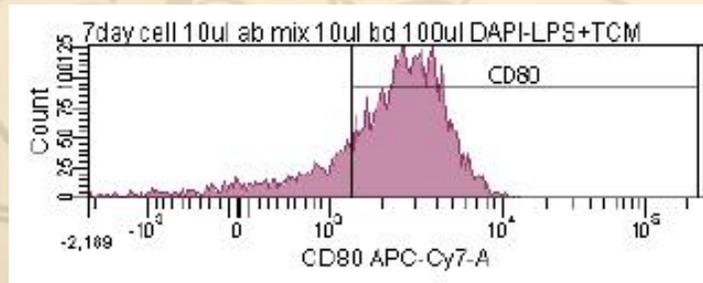
Medium



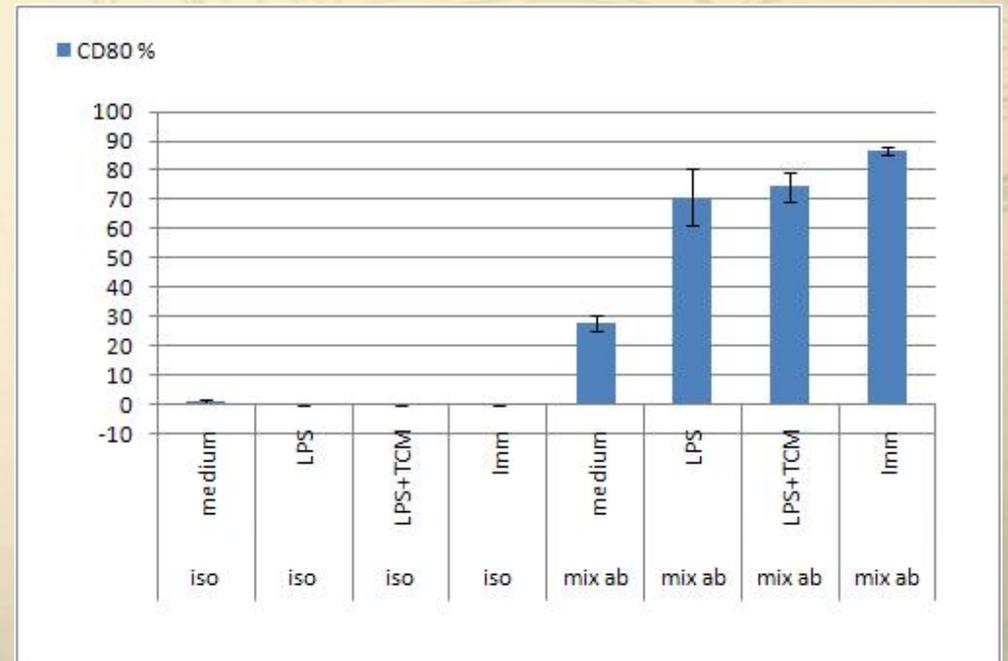
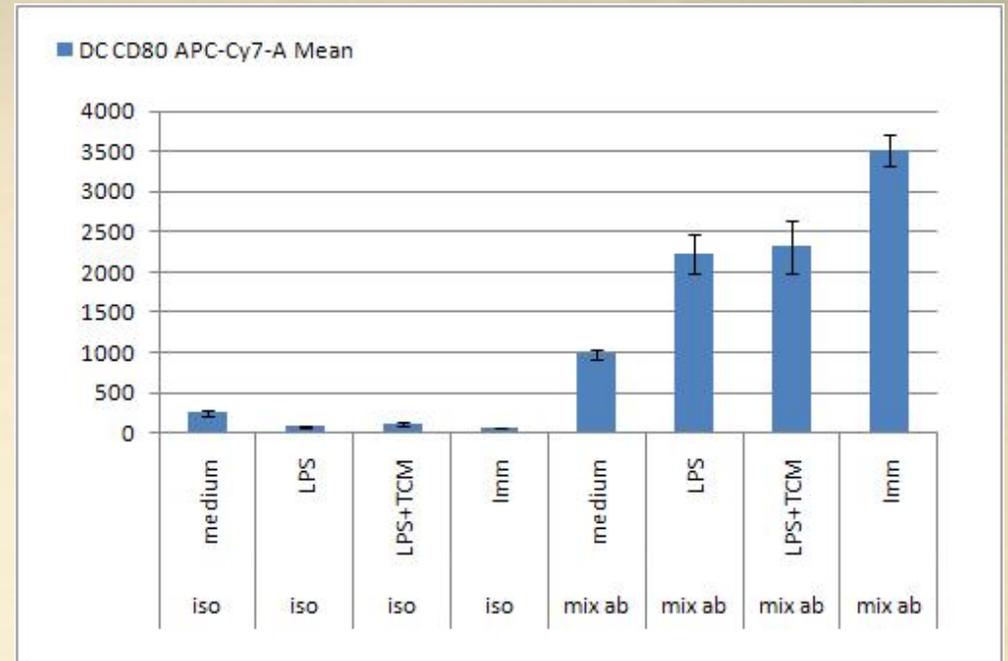
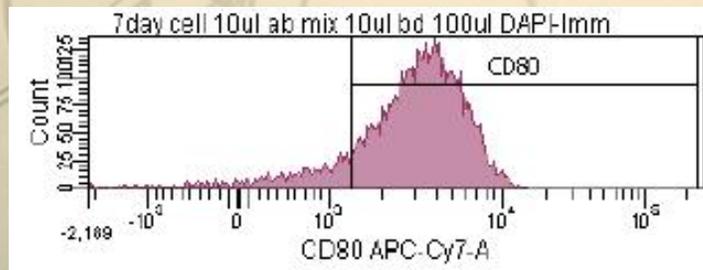
LPS



LPS+TCM

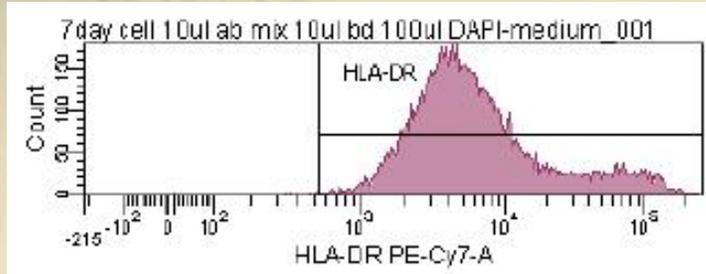


Imm

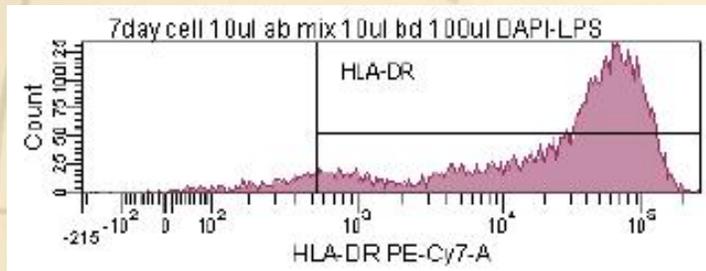


# HLA-DR

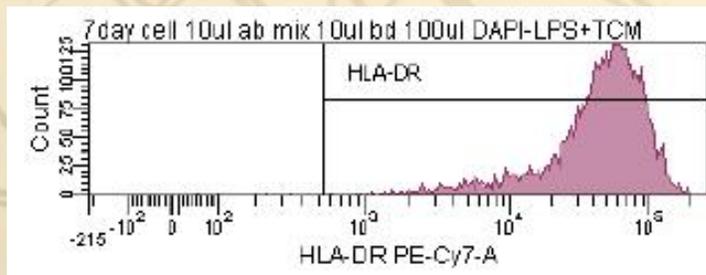
Medium



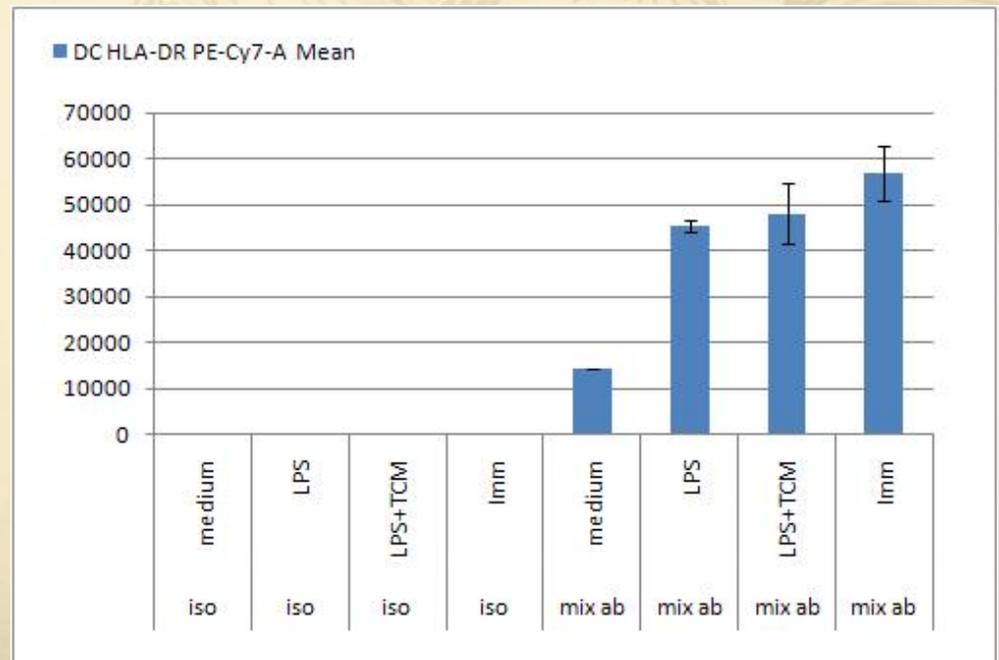
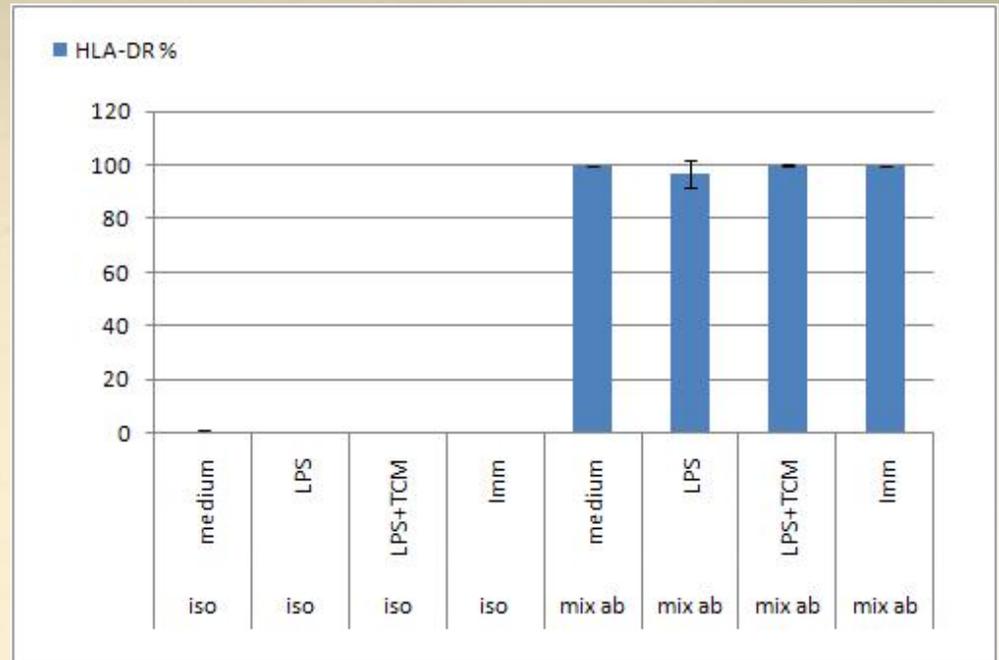
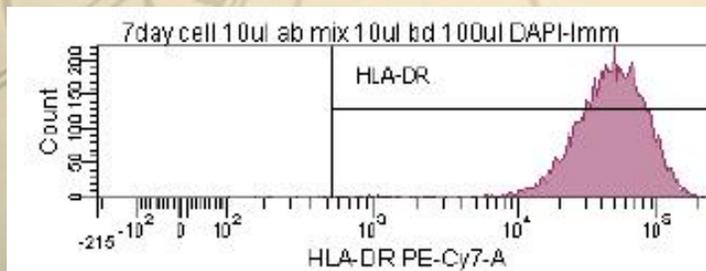
LPS

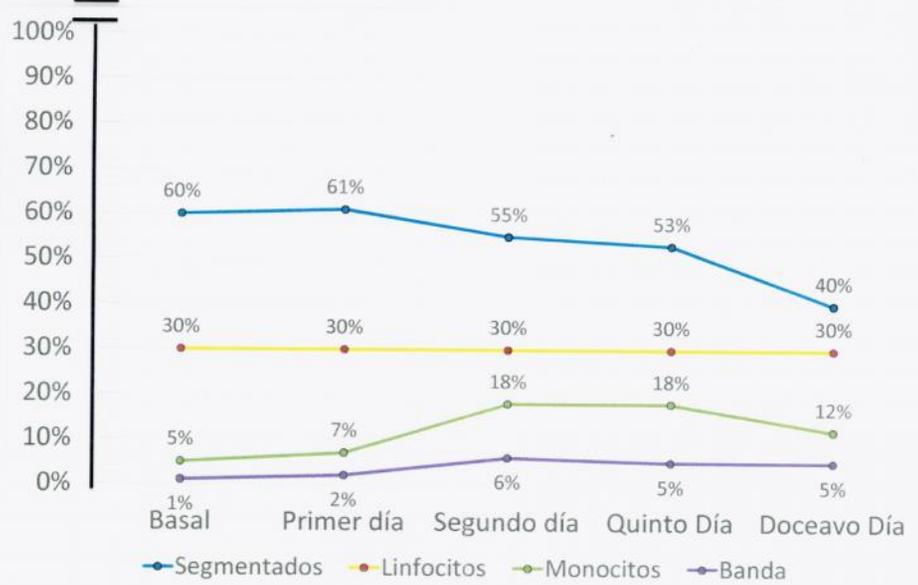
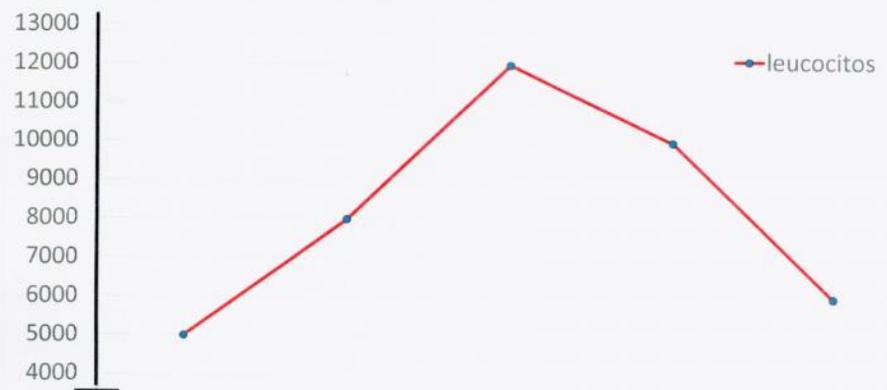


LPS+TCM

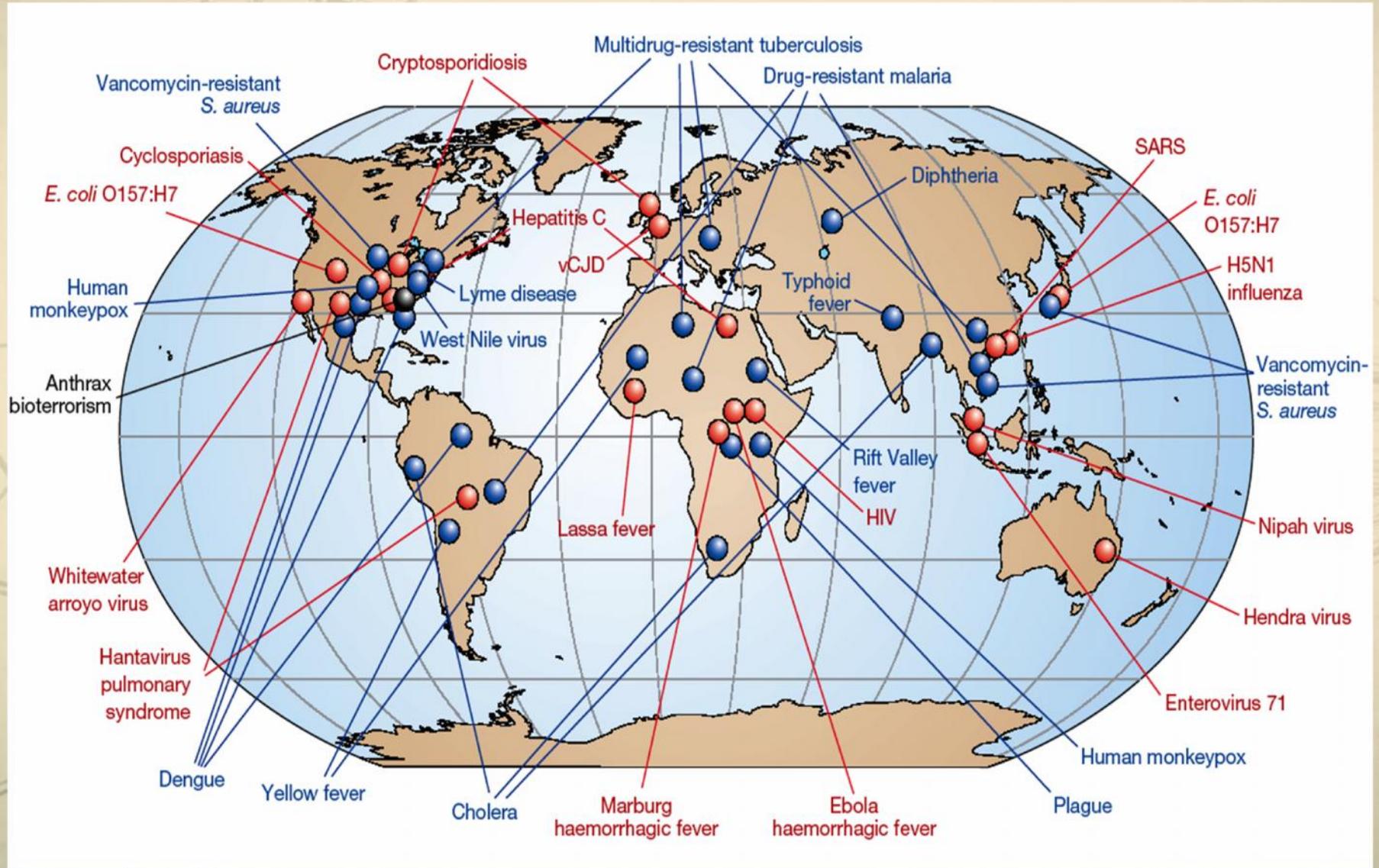


Imm

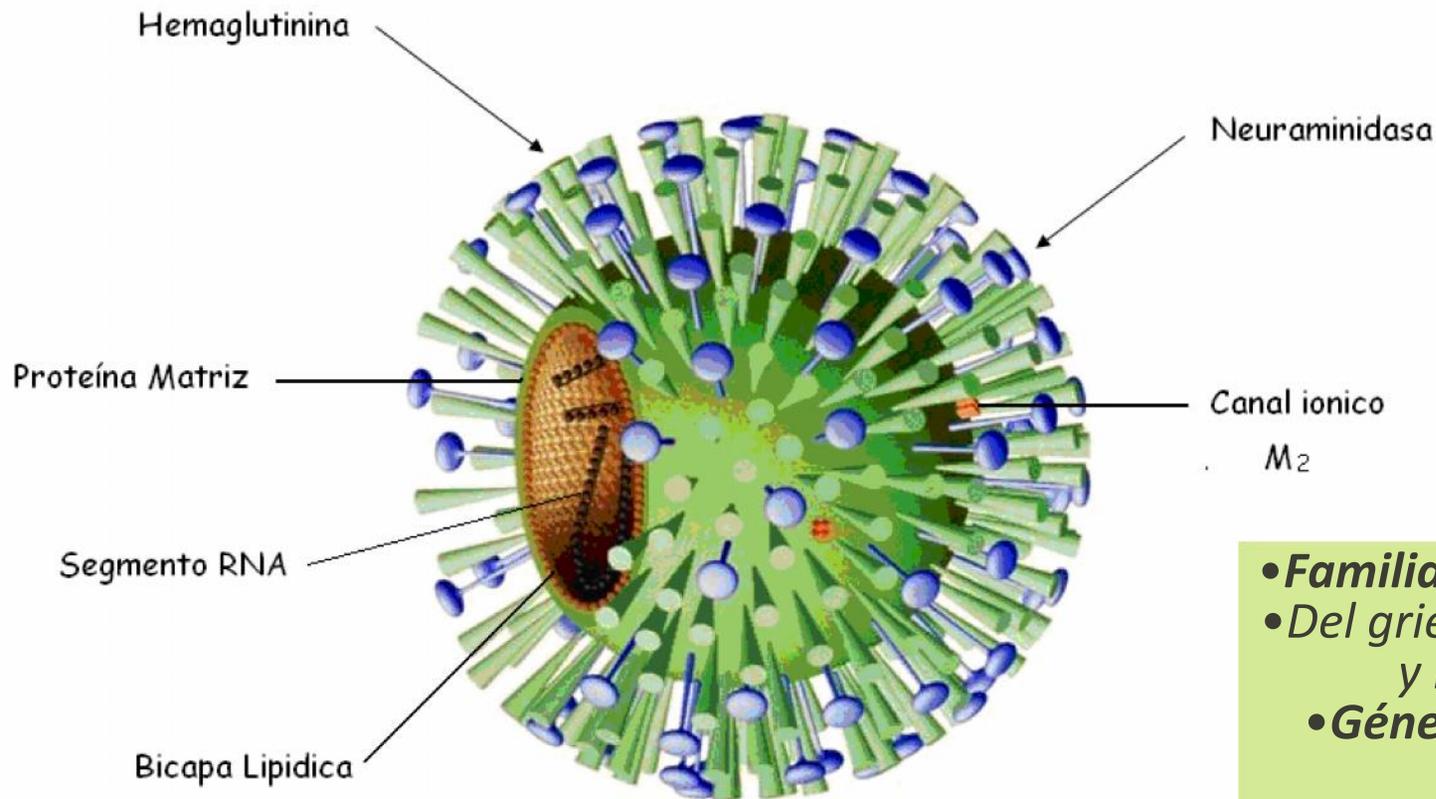




# Enfermedades emergentes y re-emergentes

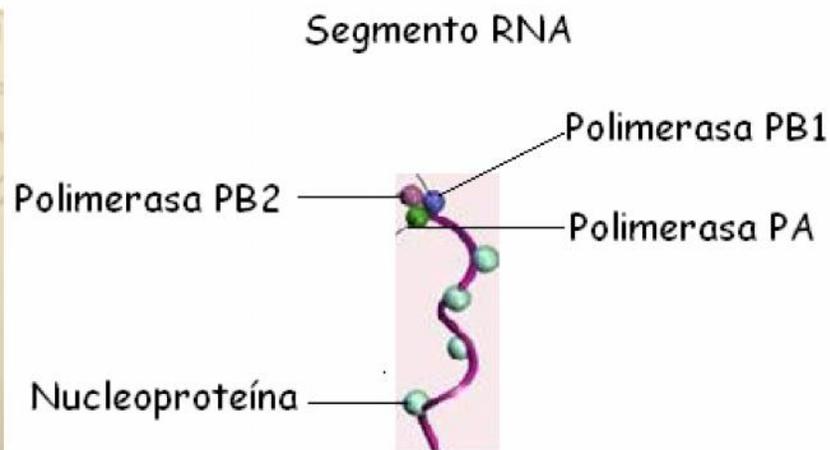


# Virus de influenza

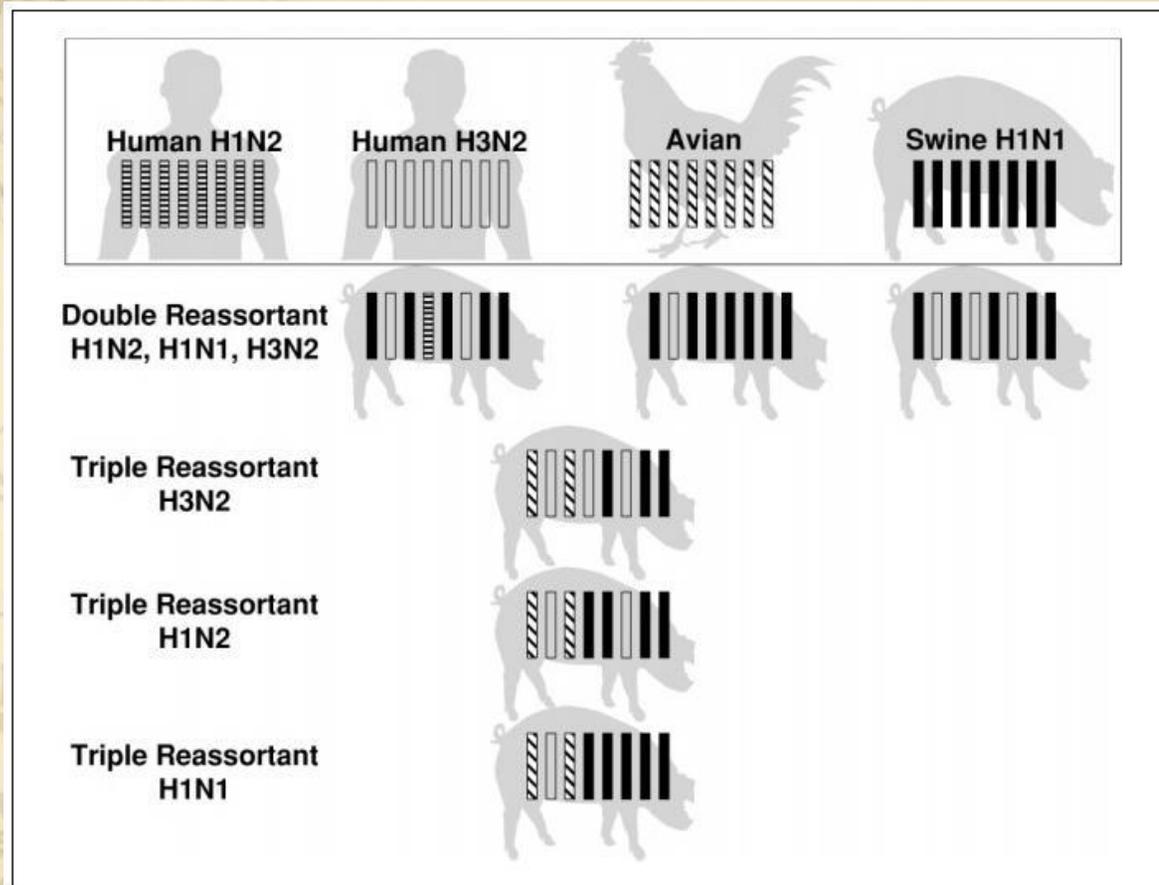


- **Familia Orthomyxoviridae**
- **Del griego orthos: derecho y myxo: mucus**
- **Género Influenzavirus**

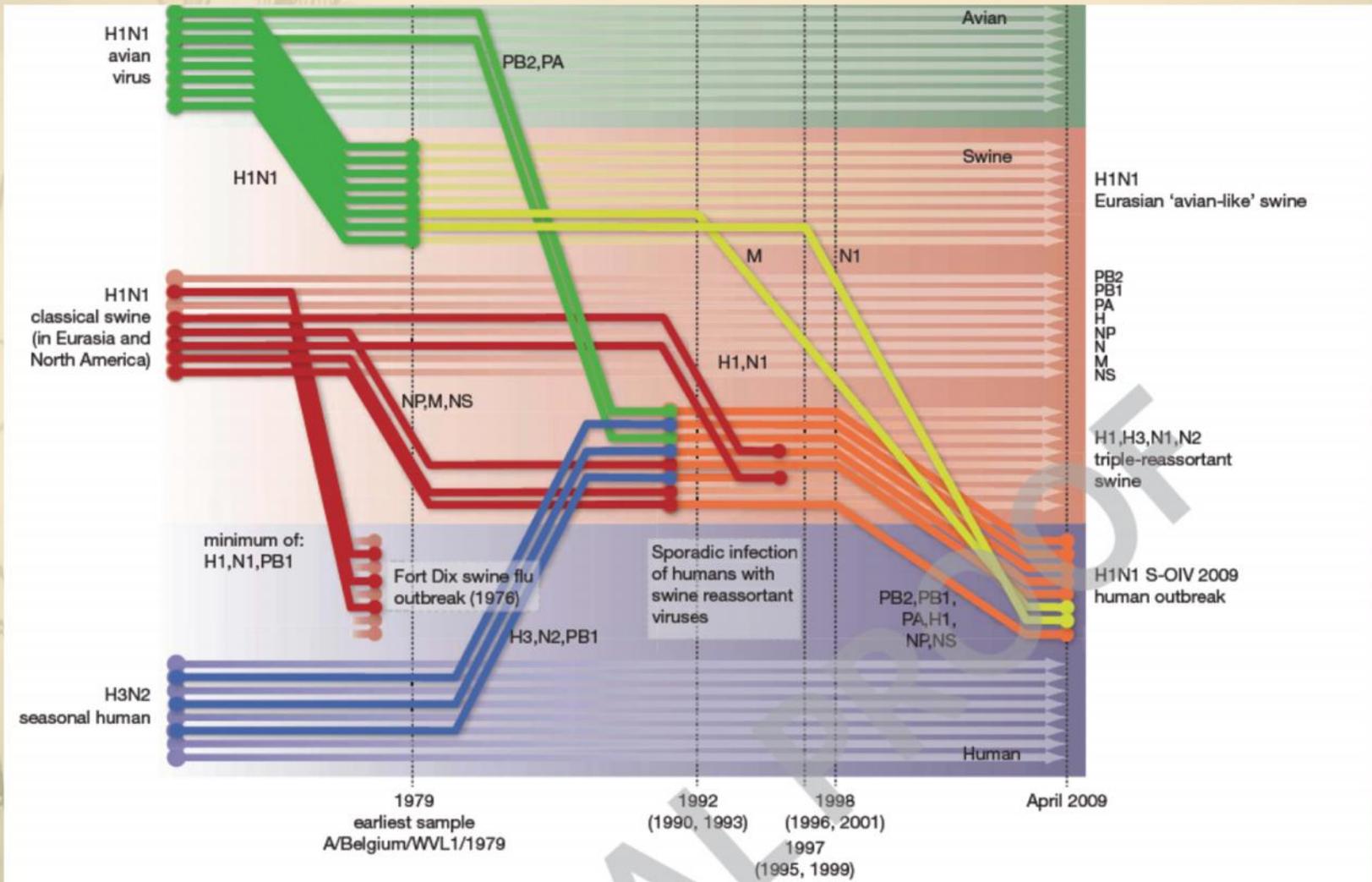
**Morfológicamente los virus influenza son esféricos, con un tamaño de 80 a 120 nm de diámetro**



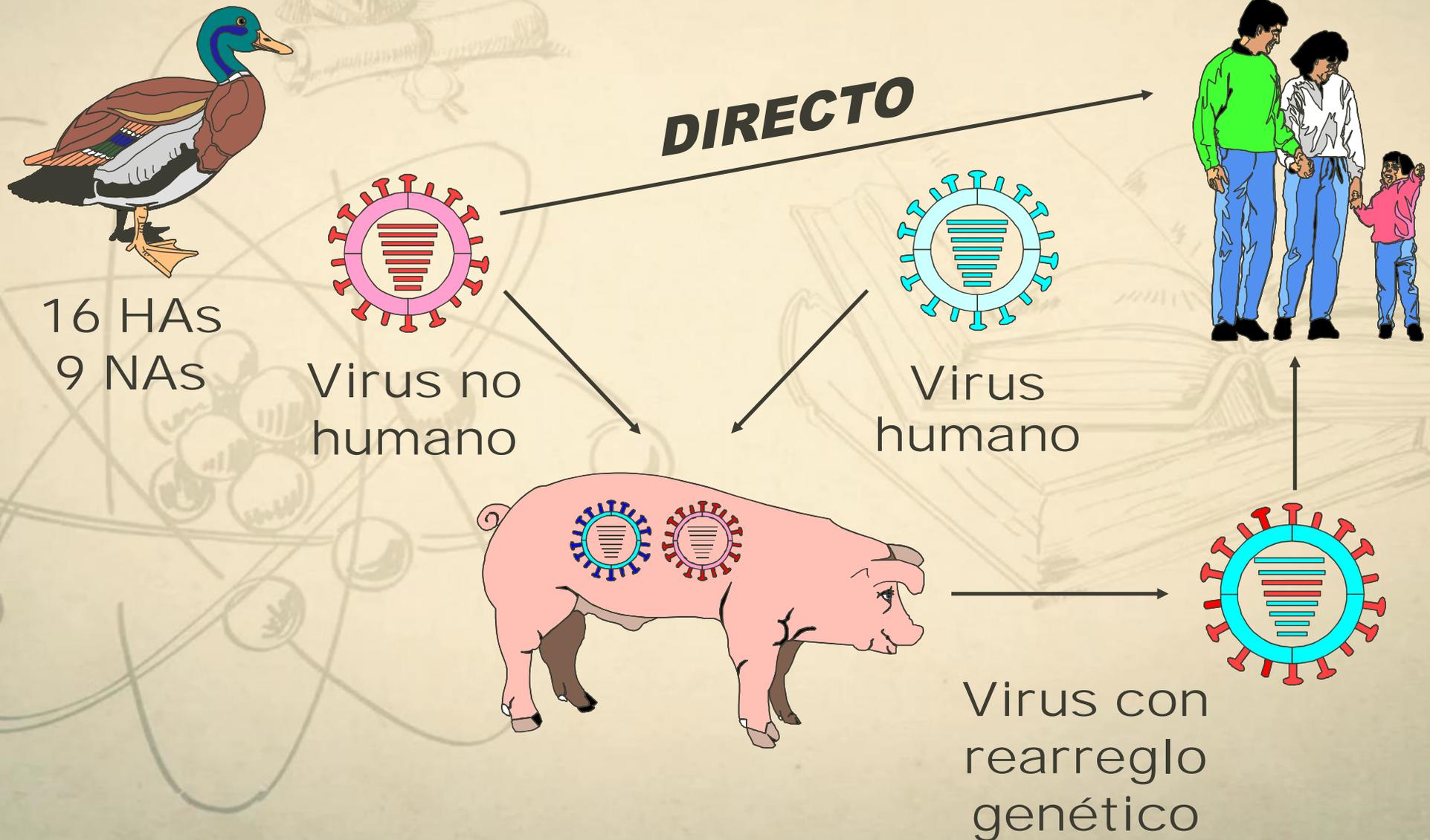
# Triple rearreglo en cerdos



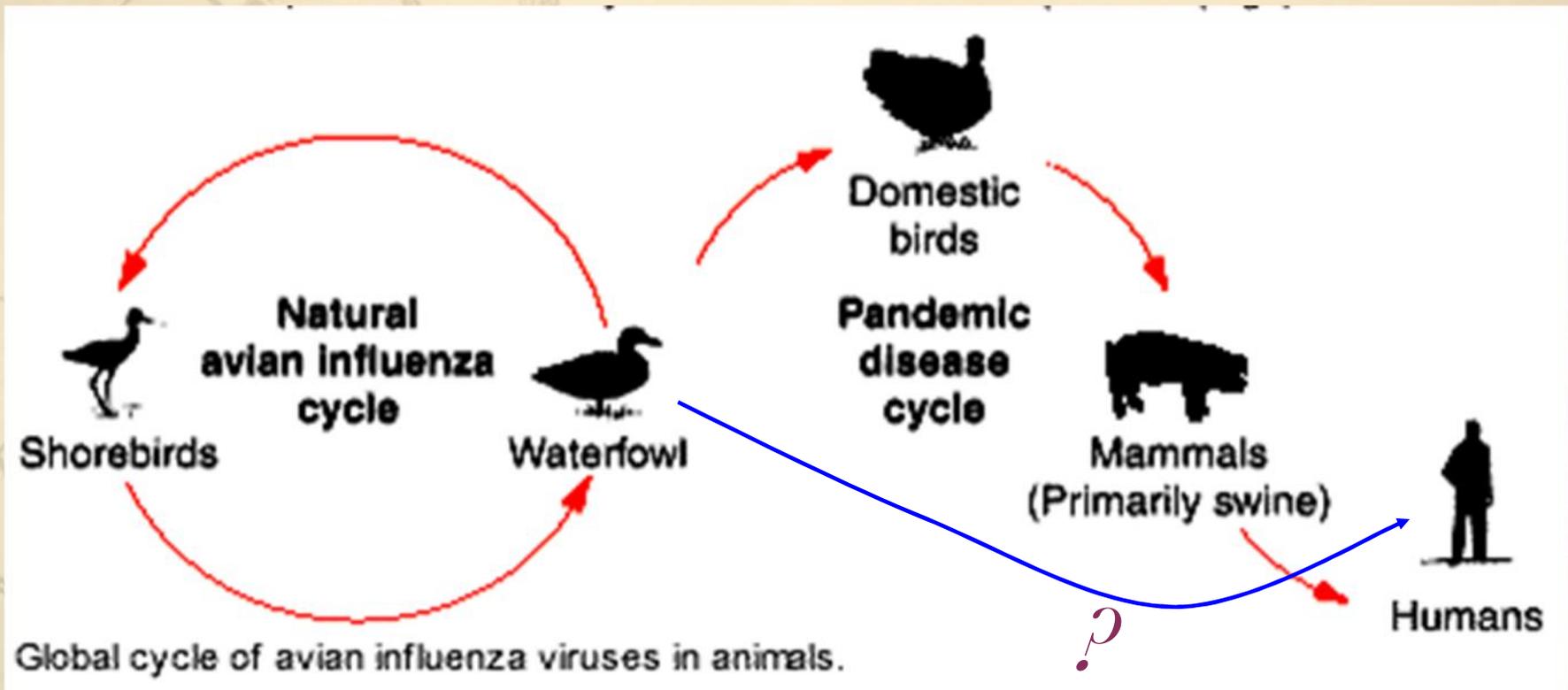
**Figure 48.8** Recent reassortment events among North American swine viruses. In 1998, triple reassortant viruses emerged in North American pig populations that contained PB2 and PA genes of avian origin; PB1, HA, and NA genes of human origin; and NP, M, and NS genes that originated from classical H1N1 swine viruses. Subsequent reassortment events resulted in triple reassortant H1N2 and H1N1 viruses. In addition, human/swine reassortants of different genotypes have been isolated from North American pigs since 1998. The eight viral RNA segments are arranged from left to right according to their lengths, starting with the longest segment (PB2).



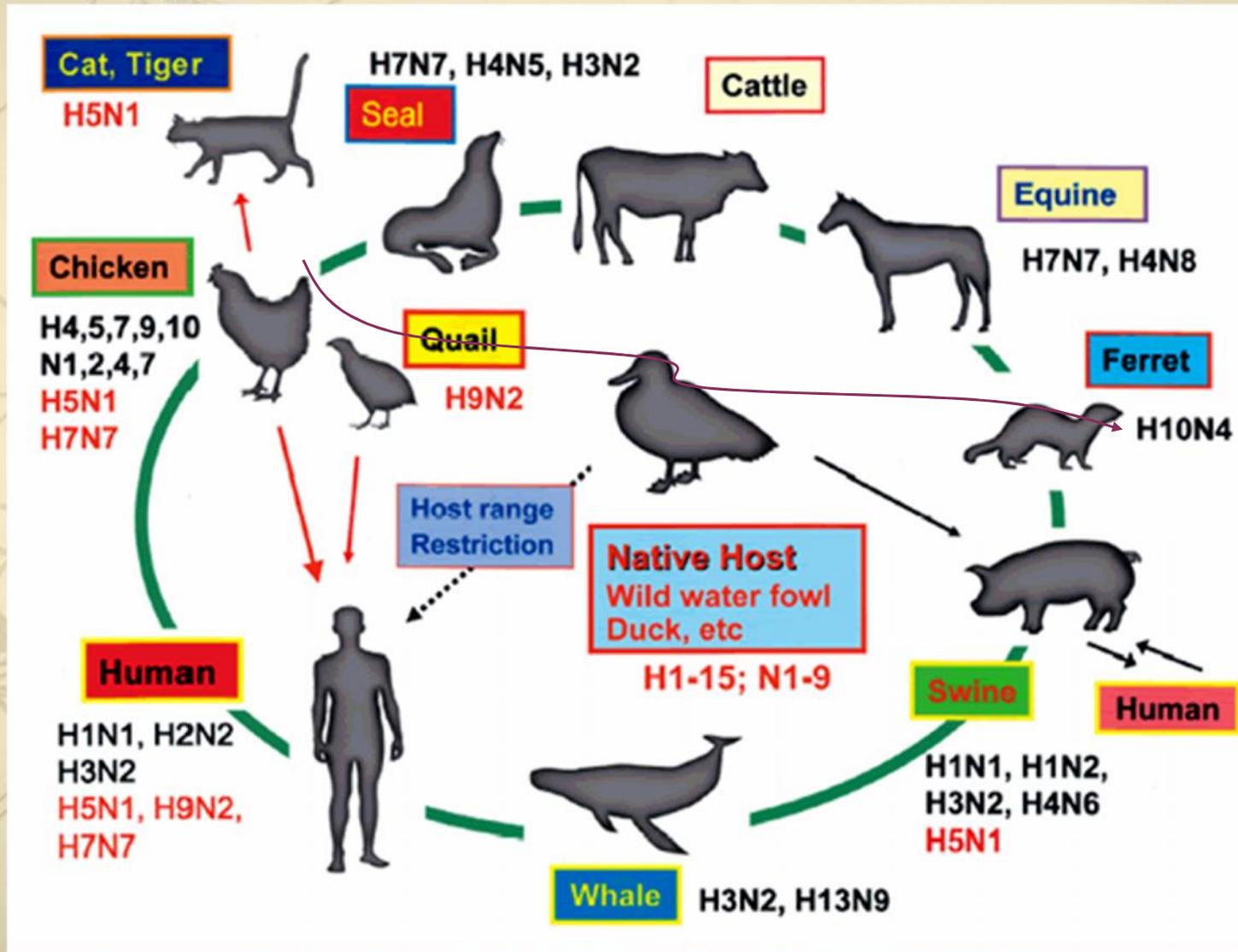
# Virus de la influenza: Mecanismos del shift antigénico



# ¿PANDEMIA DE INFLUENZA?



*Distribución de los subtipos del virus de influenza A en algunas especies*

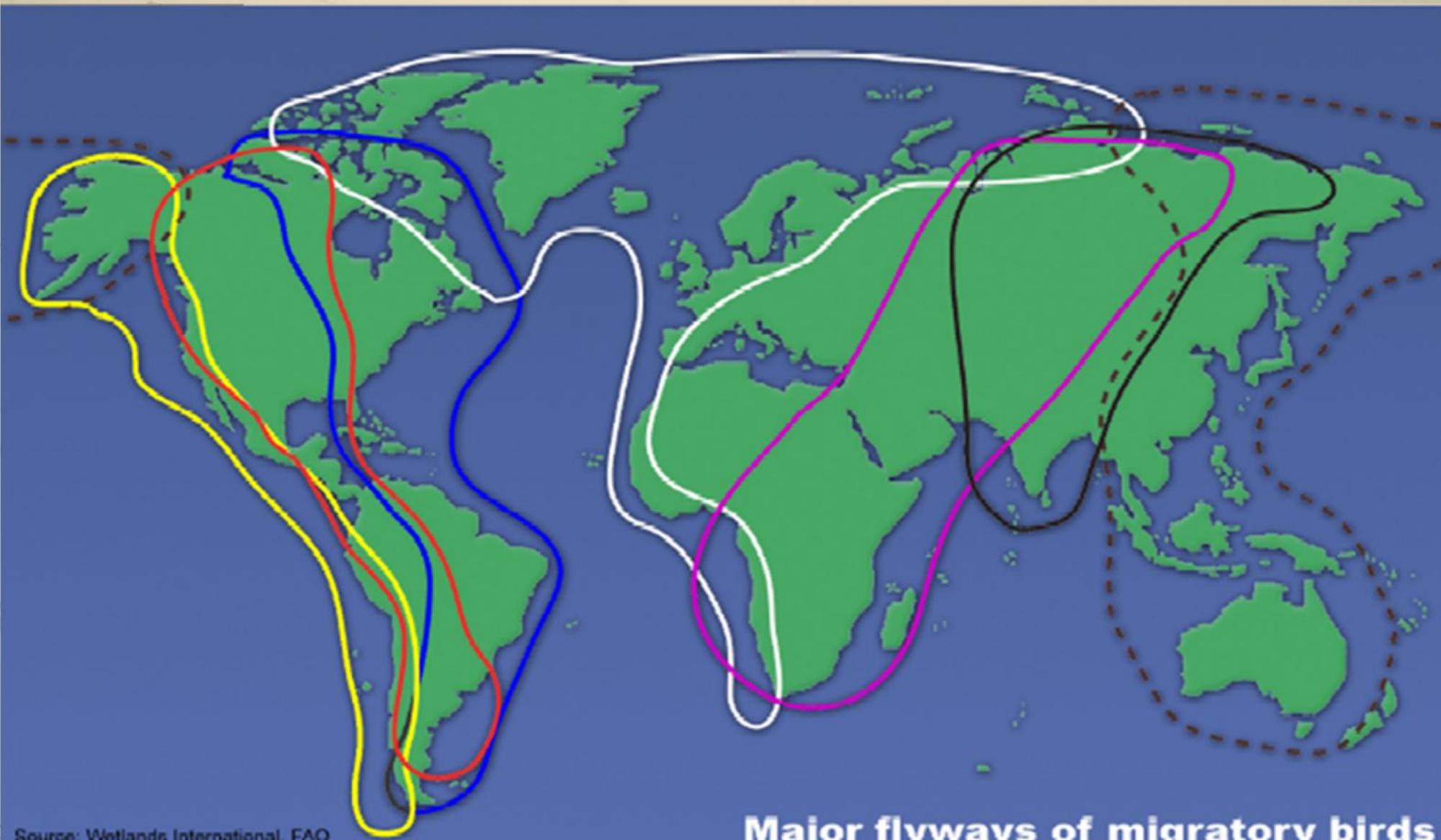


# Subtipos de la hemaglutinina del virus de la influenza A

Subtipo	Humano	Cerdo	Caballo	Ave
H1		✓		
H2				
H3		✓	✓	
H4		✓		
H5				
H6				
H7			✓	
H8				
H9		✓		
H10				
H11				
H12				
H13				
H14				
H15				
H16				



# MIGRACIÓN



# *Rutas Migratorias*

*Pacífico*

*Centro*

*Atlántico*

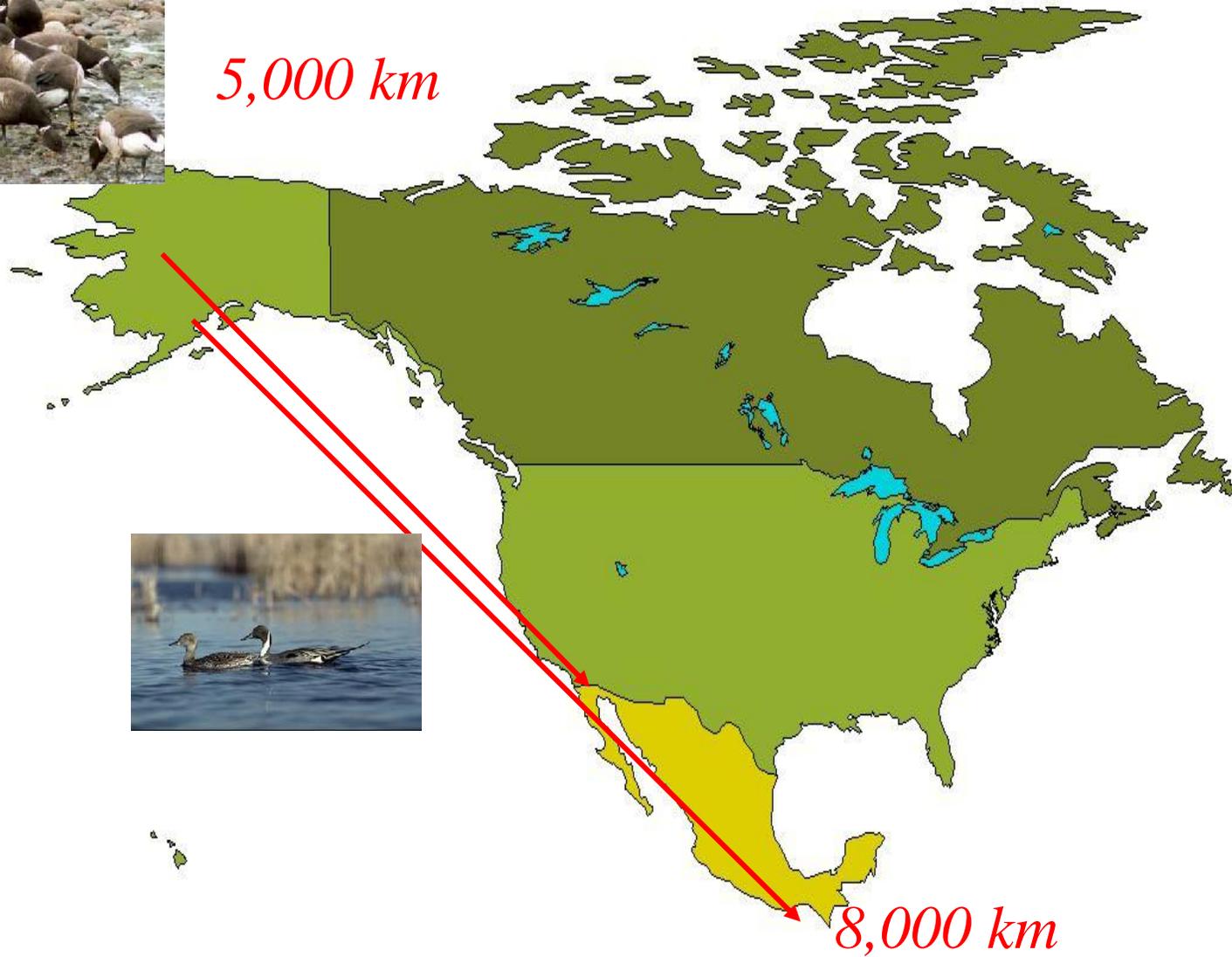
*Golfo*



# *Distancias de Vuelo*



*5,000 km*



*8,000 km*

# *Distancias de Vuelo*

*La velocidad promedio de vuelo es de 55 a 75 Km./h.*



*5,000 km*



*8,000 km*



*2,500 – 4,000 km*

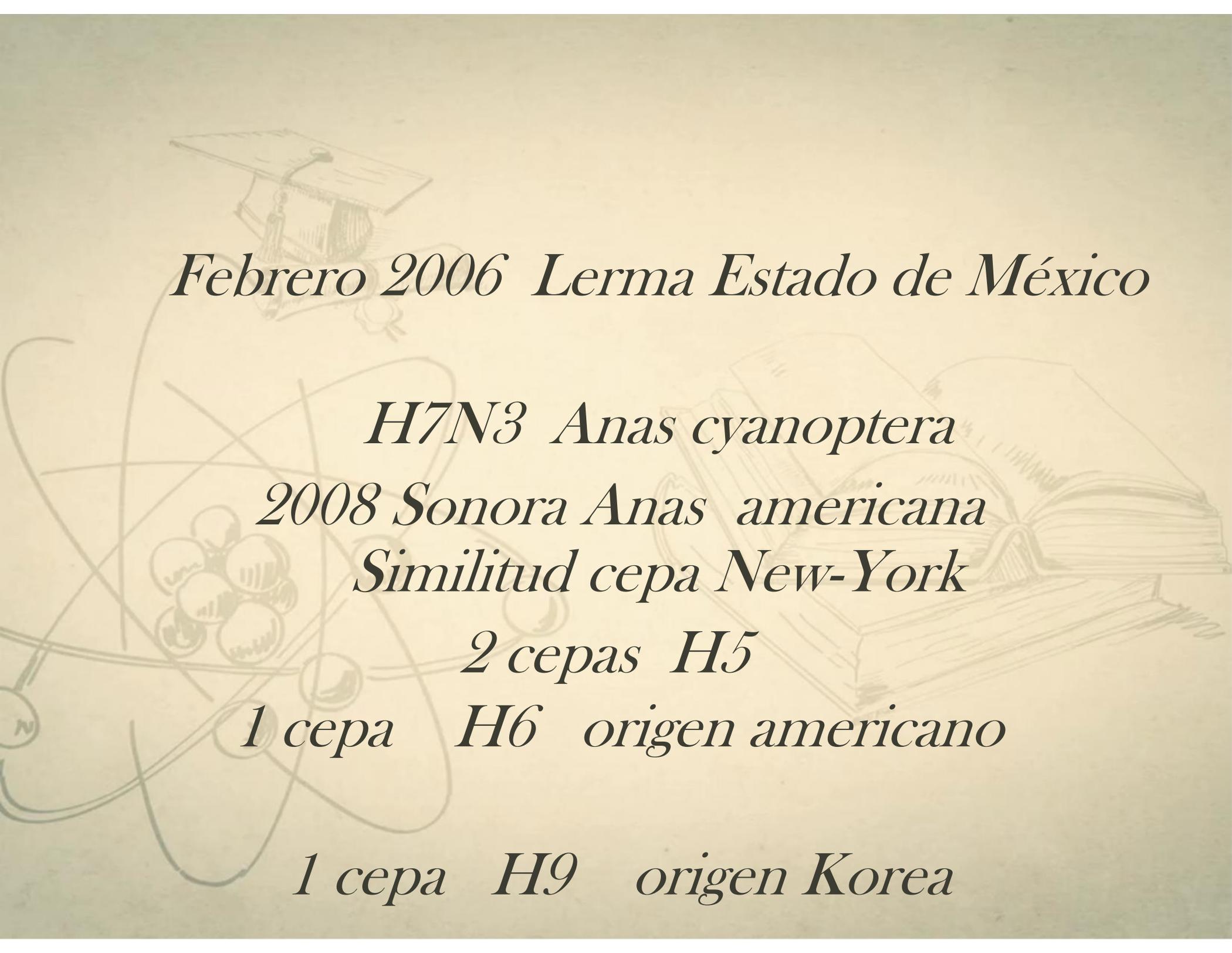
# Aves Acuáticas y sus Hábitats



# Humedales seleccionados







*Febrero 2006 Lerma Estado de México*

*H7N3 Anas cyanoptera*

*2008 Sonora Anas americana*

*Similitud cepa New-York*

*2 cepas H5*

*1 cepa H6 origen americano*

*1 cepa H9 origen Korea*



SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE  
Y RECURSOS NATURALES

SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN  
AMBIENTAL

DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE  
AV. REVOLUCIÓN 1425 NIVEL 1  
COL. TLACOPAC, SAN ÁNGEL  
DELEG. ÁLVARO OBREGÓN  
C. P. 01040 MÉXICO, D. F.

SGPA/ DGVS 01278

México, D. F., a 06 MAR. 2007 /07.

DR. ANGEL DEL VALLE MOLINA  
DIRECTOR GENERAL DE SANIDAD ANIMAL  
SENASICA-SAGARPA  
PRESENTE

Con base en las reuniones celebradas con usted, en donde se notificó el interés de esta Dirección General de conocer la condición sanitaria de las aves migratorias acuáticas que arriban a nuestro país cada invierno, en lo referente a Influenza Aviar Altamente Patógena y con ello poder tener los elementos para establecer su papel real y potencial en este padecimiento para la fauna silvestre, animales domésticos y el ser humano, le informamos lo siguiente:

- a) Se diseñó un monitoreo de especies de aves acuáticas migratorias, consideradas de importancia epidemiológica según información técnica de la Organización Nacional de Sanidad Animal (OIE), derivada de reportes en Canadá, Estados Unidos de América y otros países asiáticos colindantes con ellos en la parte septentrional del Continente Americano.
- b) Este muestreo se realizó acorde a los naturaleza y ciclos de migración, así como densidades poblacionales de este tipo de aves y características ecológicas en humedales estratégicos para la conservación y aprovechamiento sustentable en todo el territorio nacional
- c) Otro considerando para la clasificación de humedales a monitorear fue el de presencia de zonas avícolas, porcícolas y centros de población, en sitios cercanos a los mismos
- d) Se tomaron muestras por medio de hisopos en cloaca y traquea, acorde a la técnica establecida en el Capítulo 2.7.12 Influenza Aviar en vigor. Así como lo establecido en el protocolo de colecta, almacenamiento y envío del Nacional Wildlife Health Center del Servicio Geológico de los Estados Unidos (USGS) para muestras provenientes del aprovechamiento cinegético, Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995 Campaña nacional contra la Influenza Aviar publicada en el Diario Oficial de la Federación del 30 de enero de 2006.
- e) Se han concentrado las muestras en el Laboratorio de Medicina de la Conservación ubicado en la Escuela Superior de Medicina del IPN y en el de Producción Animal Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Campus Ciudad Universitaria de la UNAM, donde se cumplen los requisitos de bioseguridad requeridos, bajo responsabilidad del Dr. Héctor Zepeda López y Dr. Gary García Espinoza, respectivamente. En el marco de los Convenios de Bases de Colaboración celebrados entre estas instituciones y esta Unidad Administrativa.
- f) Asimismo se están realizando estudios complementarios a la ecología de esta enfermedad, fundamentalmente en lo referente a la caracterización inmunogenética de las especies de aves, su taxonomía molecular y su posible papel en la diseminación y amplificación de estos agentes entre la fauna silvestre.
- g) Este monitoreo se repetirá en el siguiente ciclo migratorio esperando cubrir el 100% de los humedales prioritarios. *uf*



- h) Debido a que no se muestreo ningún reporte de mortalidad o comportamiento anormal en los humedales muestreados, no se considera probable ningún aislamiento de un virus altamente patógeno, pero en su caso se procederá a enviarlo a la Comisión México- Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa y Otras Enfermedades Exóticas (CPA) para su caracterización y la respuesta sanitaria que se juzgue correspondiente.

A efecto de realizar las pruebas diagnósticas correspondientes, a las muestras descritas en el inciso "d" del presente, requerimos la disponibilidad de los controles positivos y negativos para esta enfermedad, que ponen a nuestra disposición el Dr. Tom DeLiberto National Wildlife Research Center USDA-APHIS Wildlife Services, a través del Dr. Kelly Preston previo visto bueno de usted, en el marco de los Acuerdos Binacionales derivados del Memorando de Entendimiento celebrado entre esta entidad federal del gobierno de Estados Unidos y la SEMARNAT. Por lo que le solicitamos de la manera más atenta su visto bueno, para ello y que nos informe si se requiere obtener una Hoja de requisitos Zoonosarios SENASICA-01-011-para estos efectos.

Para lo anterior, es fundamental contar con la autorización y aprobación de los laboratorios que prestan servicio a esta Dirección General (los cuales se mencionan en el inciso "e"), por parte de esa Dirección General, con la finalidad de poder realizar la totalidad de los procesos de diagnóstico, en el entendido de que los resultados serán enviados al SIVE en los formatos oficiales, de conformidad con la NOM en vigor. Por lo que le solicitamos de la misma manera nos indique si se requiere que estos Laboratorios realicen el trámite de SENASICA-01-030 Aprobación de laboratorios de pruebas en materia zoonosaria.

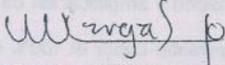
Es importante mencionar que este proceso de notificación ya se realizó, para la enfermedad que nos ocupa, en el caso positivo detectado en las Ciénegas del Lerma, Estado de México colectado durante la temporada migratoria del 2005-2006, el cual fue publicado a través del Reporte Semanal del Sistema de Vigilancia Epidemiológica a su cargo, de la semana epidemiológica 24, correspondiente al periodo del 11 de junio al 17 de junio del 2006.

Por lo que en el caso de un probable aislamiento de alguna cepa de virus, que no tenga impacto epidemiológico, pero que sea de interés científico es primordial para esta Dirección General, en condiciones apropiadas de manejo de este tipo de material, el continuar la investigación de la misma mediante estudios de genómica, proteómica y de epidemiología molecular.

En este sentido, me permito solicitarle de la manera más atenta, proporcionarnos una copia del dictamen oficial de la caracterización molecular realizada por la CPA-INDRE de dicho aislamiento, con el propósito de integrarlo a nuestro expediente oficial.

Sin otro particular por el momento, agradezco de antemano la atención al presente, estamos a sus apreciables órdenes para cualquier instrucción o aclaración al presente.

ATENTAMENTE  
SUFRAGIO EFECTIVO. NO REELECCIÓN  
EL DIRECTOR GENERAL DE VIDA SILVÉSTRE

  
MARTIN VARGAS PRIETO

C.M.

Ing. Juan Elvira Quezada. Secretario de medio Ambiente y Recursos Naturales. Para su conocimiento.  
Lic. Mauricio Limón Aguirre.- Subsecretario de Gestión para la Protección Ambiental.- Para su conocimiento. C:\respaldo-  
mendieta\mendieta\Mis documentos\AVIAN INFLUENZA\SAGARPA COMUNICADOS\OFICIO\_SOLICITA\_CARACTERIZACION  
VIRUS\_1\_1.03.07.doc



## **Detección de orthomyxovirus H7N3 en anátidos del Estado de México** (Detection of orthomyxovirus H7N3 in waterfowl from the State of Mexico)

**Cuevas-Domínguez, Edgar A:** Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F., Tel./Fax 5616692 (nick de redvet: **edgarcuevas**) Email: [edgar.cuevas@semarnat.gob.mx](mailto:edgar.cuevas@semarnat.gob.mx) | **González-Guzmán, Sofía:** Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia | **Quintana-López, José A:** Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia | **Loza-Rubio, Elizabeth:** Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias | **González-Rebeles, Carlos:** Departamento de Etología, Fauna Silvestres y Animales de Laboratorio. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia | **García-Espinosa, Gary:** Departamento de Producción Animal: Aves, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

---

### **Resumen**

Durante octubre 2005 a marzo 2006 se muestrearon 231 individuos de 7 especies diferentes, mediante hisopos cloacales y faríngeos. El objetivo fue la detección en condiciones naturales de orthomyxovirus en las ciénegas de Lerma y durante la estancia de los patos silvestres en el Estado de México. Durante el mes de Febrero se logro la detección de un orthomyxovirus H7N3 de baja patogenicidad. Siendo para México el primer reporte oficial de aislamiento viral de forma natural en un *Anas Cyanoptera* en los humedales de México.

**Palabras Clave:** influenza aviar | orthomyxovirus | aislamiento viral | anátidos | *Anas cyanoptera* | H7N3

---

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad  
Intelectual  
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional  
**WO 2012/060678 A2**

(43) Fecha de publicación internacional  
10 de mayo de 2012 (10.05.2012)

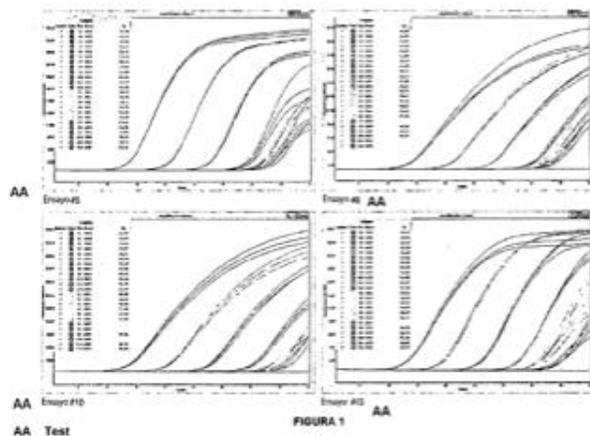
PCT

- (51) Clasificación Internacional de Patentes: Sin (74) Mandatario: LOPEZ CISNEROS, Gerardo Miguel; Cruz de Valle Verde #14-201, Col. Santa Cruz del Monte, C.P. 53110, Naucalpan, Estado de Mexico (MX).
- (21) Número de la solicitud internacional: PCT/MX/2011/000132 (81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (22) Fecha de presentación internacional: 1 de noviembre de 2011 (01.11.2011)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:  
61/409,303  
2 de noviembre de 2010 (02.11.2010) US  
MX/a/2011/011561  
31 de octubre de 2011 (31.10.2011) MX
- (72) Inventor; e
- (71) Solicitante : ZEPEDA LÓPEZ, Hector Manuel [MX/MX]; Cruz de Valle Verde #14-201, Col. Santa Cruz del Monte, C.P. 53110, Naucalpan, Estado de Mexico (MX).
- (84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: NOVEL VACCINES AGAINST THE A/H1N1 PANDEMIC FLU VIRUS

(54) Título : VACUNAS NOVEDOSAS CONTRA EL VIRUS DE LA INFLUENCIA PANDÉMICA A/H1N1



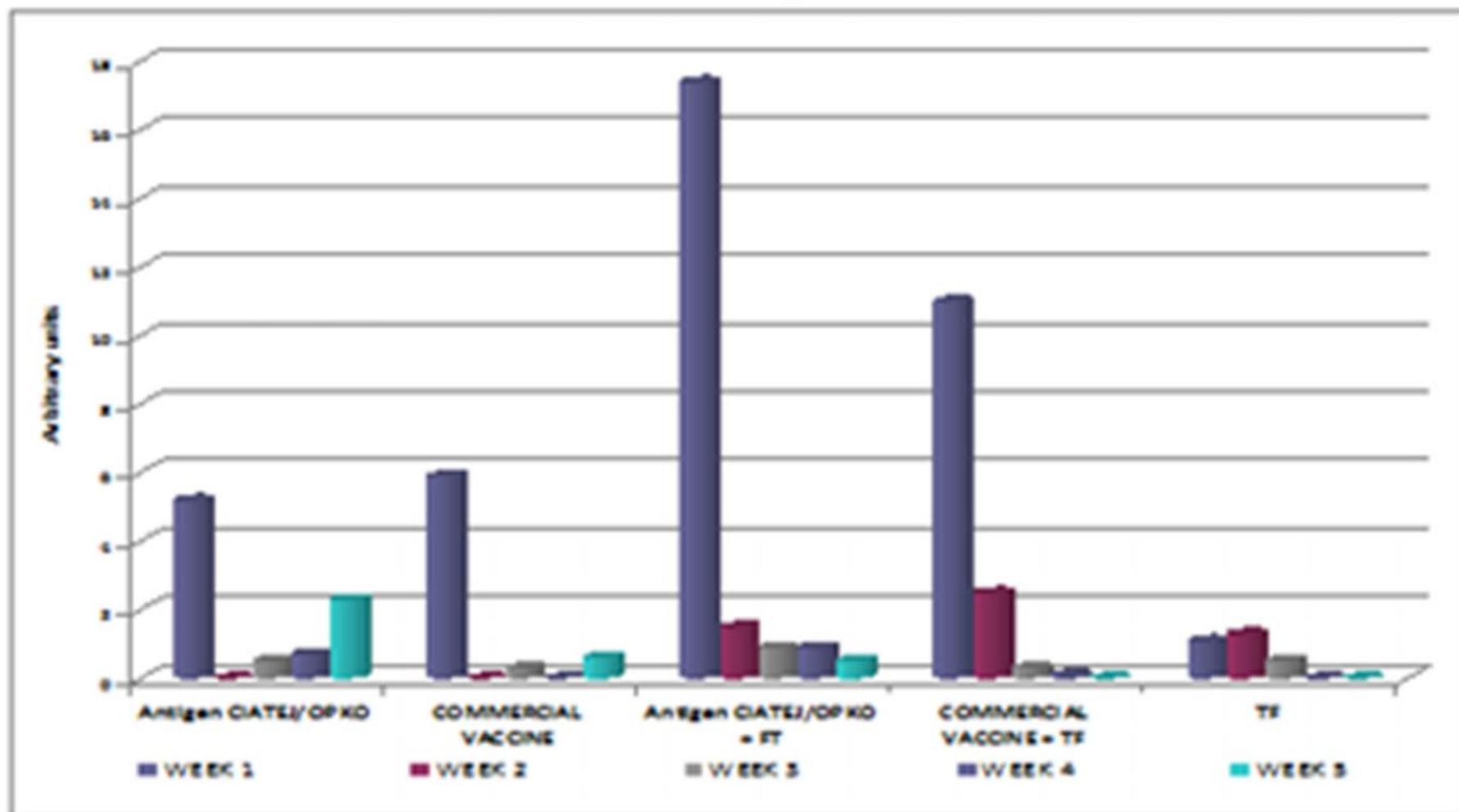
(57) Abstract: The invention relates to vaccines against the flu virus, in particular a flu virus in which at least the hemagglutinin gene contains a D222 mutation and a neuraminidase gene resistant to Oseltamivir. In some of the implementations in particular, the vaccine against the flu virus also includes a mutation that increases the specific immune response in humans. The virus is useful for manufacturing vaccines against flu that is hypervirulent and resistant to Oseltamivir.

(57) Resumen:

[Continúa en la página siguiente]

WO 2012/060678 A2

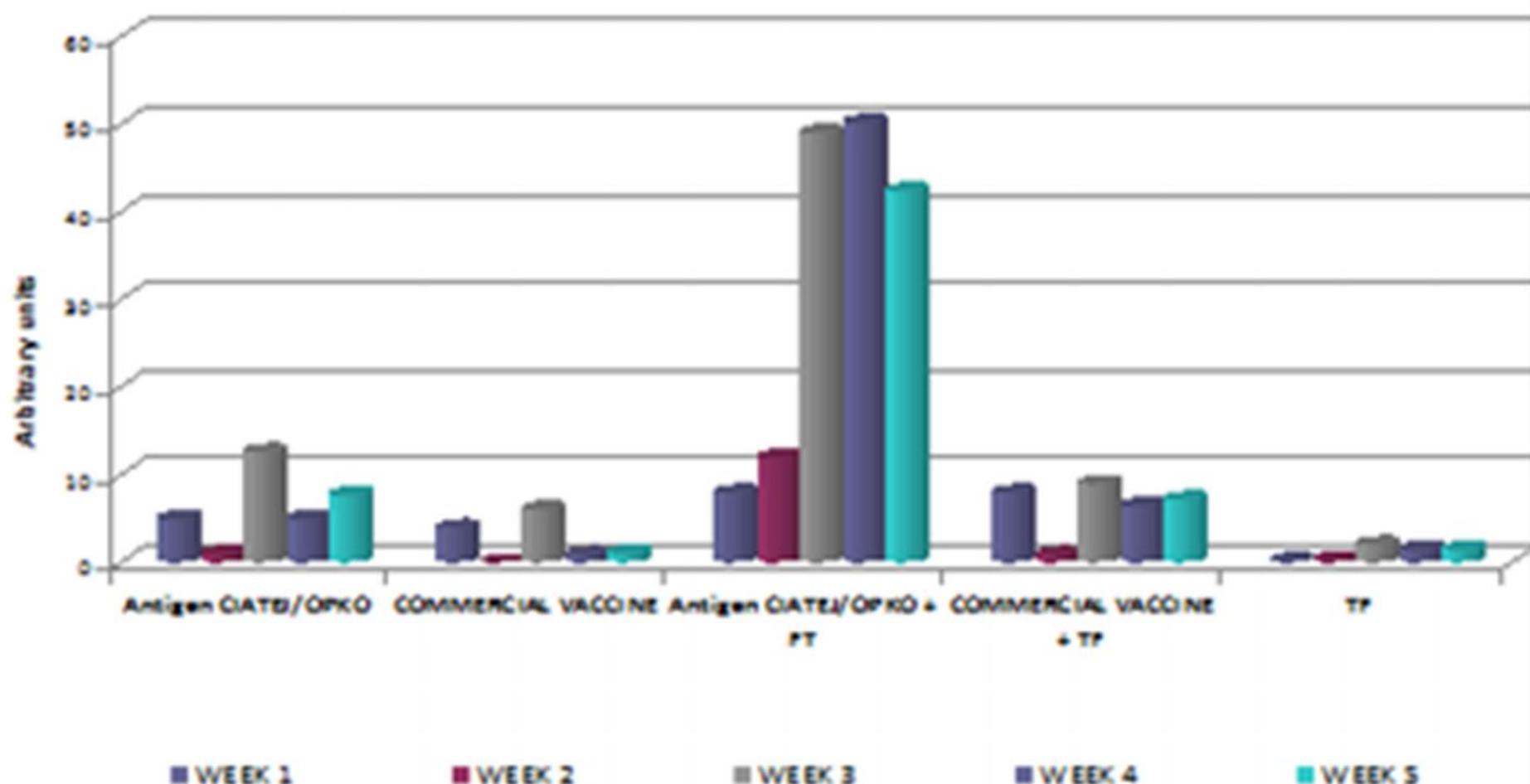
## IgM Antibodies against Influenza p/AH1N1 detected in serum by ELISA



The CIATEJ/OPKO/Vaccine was developed in Vero cells, TF = Transfer Factor Immunization was carried out in 7 to 8 weeks old BALB/c female mice. The immunization was intramuscular.



## IgG Antibodies against Influenza p/AH1N1 detected in serum by ELISA



The CIATEJ/OPKO/Vaccine was developed in Vero cells, TF = Transfer Factor  
 Immunization was carried out in 7 to 8 weeks old BALB/c female mice  
 The immunization was intramuscular.



La Colección de Microorganismos del Centro Nacional de Recursos Genéticos que pertenece al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias con número de registro ante la World Federation of Culture Collection 1006 (CM-CNRG) y Autoridad Depositaria Internacional con notificación 308 con fines de procedimiento de patente conforme al Tratado de Budapest expide el siguiente:

## CERTIFICADO DE DEPÓSITO

Correspondiente al material biológico denominado HZFLUJAL con código CM-CNRG TB11 depositada por INMUNO FACTOR, S.A. DE C.V. con domicilio en: Paseo de los Filósofos No. 1175-302 Col. Colinas de la Normal C.P. 44270 Guadalajara, Jalisco. Bajo la modalidad de DEPOSITO CON BASE AL TRATADO DE BUDAPEST, conforme a lo establecido en la CM-CNRG y así como a lo declarado por el depositante en el Formulario BP/1. Se expide el presente certificado para los fines que al interesado convengan.

Ingreso a la CM-CNRG	24/05/2016
Vigencia del certificado	24/05/2045
Número de certificado	CM-CNRG 0011

Tepatitlán de Morelos Jalisco a 08 de Agosto de 2016

CERTIFICA

  
Dr. Ramón Ignacio Arteaga Garibay  
Curador Principal de la CM-CNRG



VALIDA

  
Dr. José Fernando de la Torre Sánchez  
Director del CNRG-INIFAP





# Inmunofactor

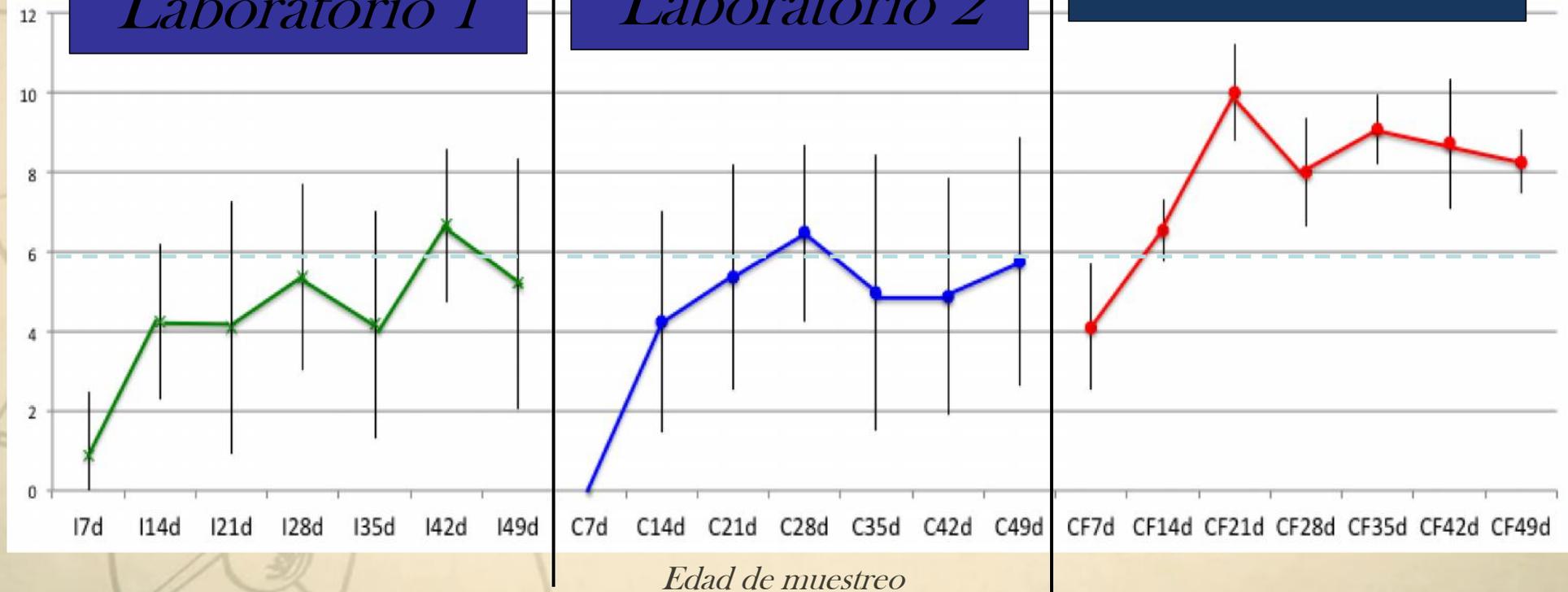
HI/IA H7N3 con y sin TCM

Laboratorio 1

Laboratorio 2

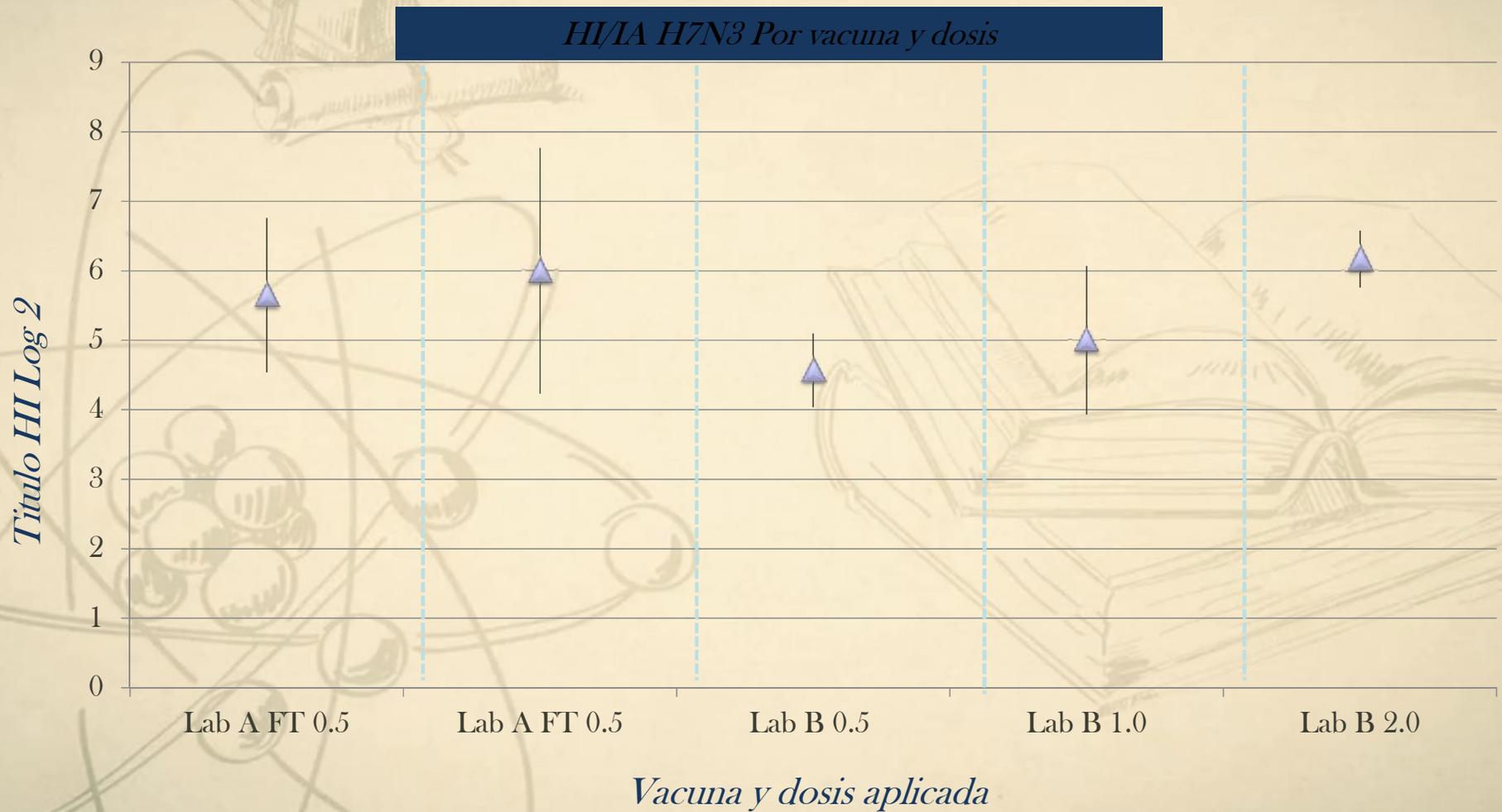
Lab 2 con TCM

Media ac's y desv. std



Se tomaron 30 muestras por grupo de broilers de una granja comercial, vacunados al día de edad

# Inmunofactor



*20 muestras de cada gpo, gallina comercial vacunada a las 6 sem de edad, toma de muestra a las 9 sem de edad*



*Resultados de tratamiento con TCM*  
*Cerdos*

# *Inmunofactor*

- *Se seleccionaron 56 cerdos de 20 kg aproximadamente.*
- *Se utilizaron 28 cerdos para grupo control y grupo de prueba respectivamente, colocados en corrales de 14 cerdos cada uno.*
- *Al inicio de la evaluación, se tomaron muestras sanguíneas para diagnóstico de PCR en Tiempo Real y corroborar presencia y cuantificación del virus de PRRS.*

# *Inmunofactor*

- *Al grupo de Prueba se le aplicó 5 ml de TCM y al grupo control se le aplicó 5 ml de solución salina como placebo.*
- *A los 10 días se repitió el muestreo sanguíneo para análisis de PCR TR con la finalidad de observar la dinámica de infección del virus.*
- *Se registró la mortalidad de ambos grupos.*

# *Inmunofactor*

## *Resultados PCR*

*Muestreo antes de la aplicación de TCM y SSF:  
25 de noviembre 2012*

Identificación:	Grupo:	Resultado:	Cuantificación:	Carga viral
<b>1, 2, 5</b>	<b>FT</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 7.99 X 10<sup>3</sup></b>	<b>7990</b>
<b>23, 24, 25</b>	<b>Controles</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 1.63 X 10<sup>4</sup></b>	<b>16400</b>

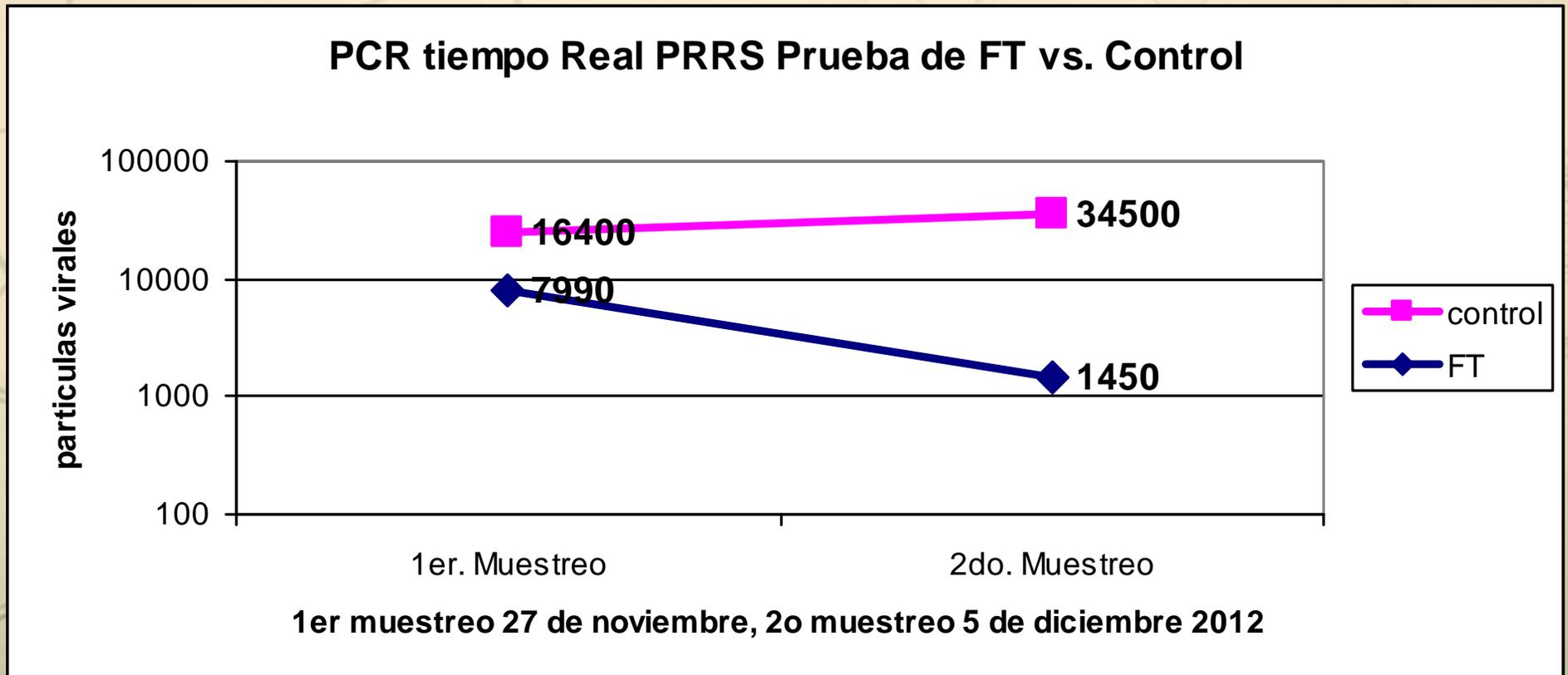
# *Inmunofactor*

## *Resultados PCR*

*Muestreo posterior a la aplicación de TCM y SSF:  
5 diciembre 2012*

Identificación:	Grupo:	Resultado:	Cuantificación:	Carga Viral
<b>1, 2, 5</b>	<b>TCM</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 1.45 X 10<sup>3</sup></b>	<b>1450</b>
<b>23, 24</b>	<b>Controles</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 3.45 X 10<sup>4</sup></b>	<b>34500</b>

## Resultados PCR en TR



# *Inmunofactor*

## *Conclusiones*

- *El grupo tratado con TCM muestra una reducción considerable de la carga viral, en comparación con el grupo control, no obstante, es necesario correr evaluaciones en las cuales podamos determinar con un modelo estadístico la confiabilidad de los resultados.*

## *Prueba dos*

## ***Inmunofactor***

- *Se seleccionaron 60 cerdos de 20 kg proximadamente y 45 días de edad.*
- *Se utilizaron 30 cerdos para grupo control y 30 grupo tratado con TCM, colocados en corrales de 15 cerdos cada uno.*
- *Al inicio de la evaluación, se tomaron muestras sanguíneas para diagnóstico de PCR en Tiempo Real y corroborar presencia y cuantificación del virus de PRRS.*

# *Inmunofactor*

- *Al grupo de Prueba se le aplicó 5 ml de TCM y al grupo control se le aplicó 5 ml de solución salina como placebo.*
- *A los 10 días se repitió el muestreo sanguíneo para análisis de PCR TR con la finalidad de observar la dinámica de infección del virus.*
- *Se registró la mortalidad de ambos grupos.*

# *Inmunofactor*

*Resultados PCR en 2da prueba  
60 cerdos de 20kg / 30 por gpo*

*Muestreo antes de la aplicación de TCM y SSF:  
25 Febrero 2013*

Identificación:	Grupo:	Resultado:	Cuantificación:	Carga viral
<b>6,8,10</b>	<b>TCM</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 6.99 X 10<sup>3</sup></b>	<b>6990</b>
<b>16,17,18</b>	<b>Controles</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 6.30 X 10<sup>4</sup></b>	<b>6300</b>

# *Inmunofactor*

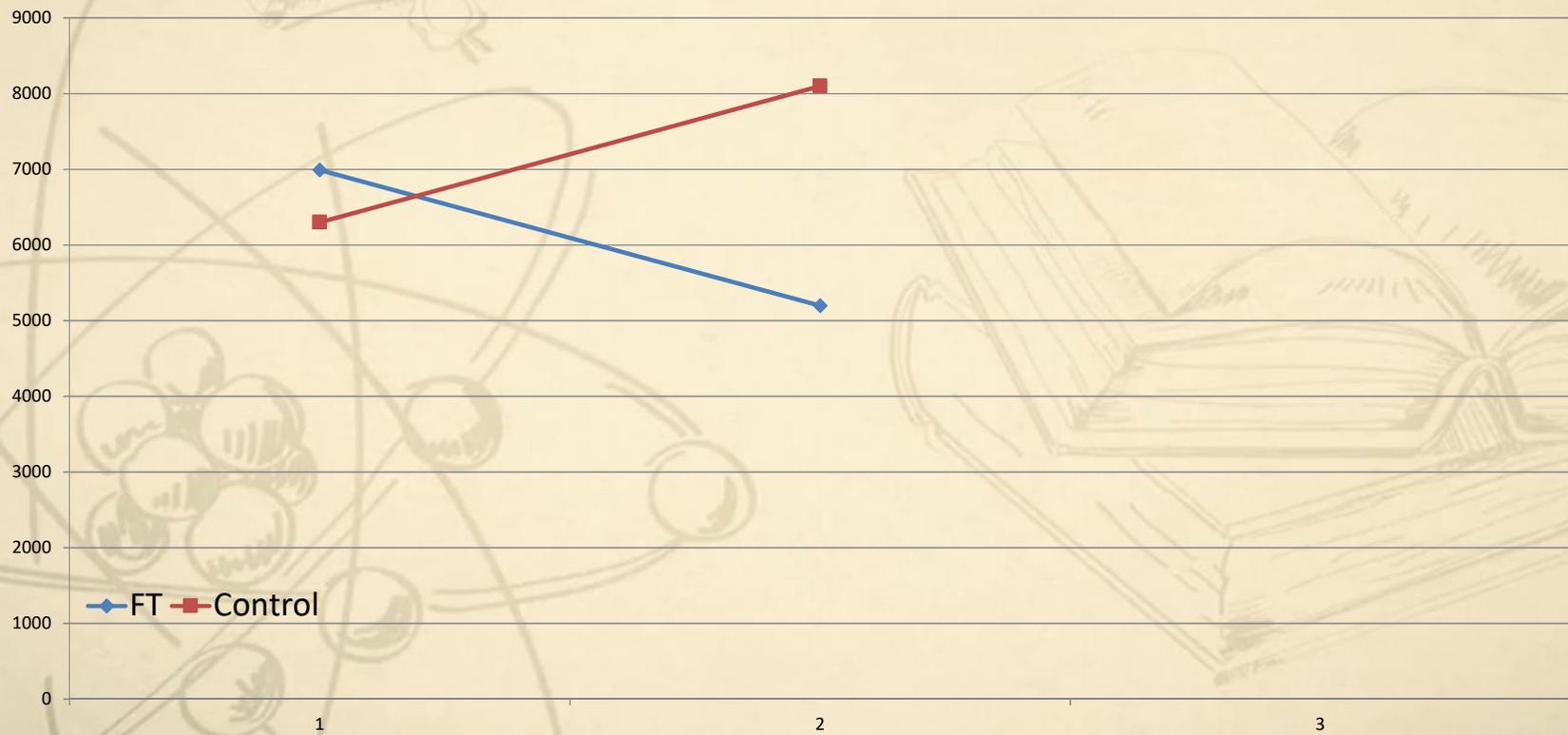
## *Resultados PCR*

*Muestreo posterior a la aplicación de TCM y SSF 8 de Marzo 2013*

Identificación:	Grupo:	Resultado:	Cuantificación:	Carga Viral
<b>6,8,10</b>	<b>TCM</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 5.20X 10<sup>3</sup></b>	<b>5200</b>
<b>16,17,18</b>	<b>Controles</b>	<b>Positivo</b>	<b>* 8.10 X 10<sup>3</sup></b>	<b>8100</b>

# *Inmunofactor*

## *Resultados PCR en TR*



Resumen: Rosa Elena Sarmiento Silva

## Hepatitis Porcina Viral: Identificación, Diagnóstico y Hallazgos de Interés en la Producción Porcina.

La hepatitis E es un problema de salud emergente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta en su portal de internet que cada año se estiman 20 millones de infecciones por virus de la hepatitis E (VHE), de las cuales 3 millones tienen una presentación aguda y ocasiona 56,600 muertes (1).

El VHE puede diseminarse por transmisión zoonótica de animales infectados a humanos y a través del contacto de persona a persona. Por otra parte, ahora se reconoce que la transmisión del VHE es posible por transfusiones. En México, los casos de hepatitis E aguda quedan a menudo bajo sospechas diagnósticas, el reporte de casos de Hepatitis Virales se centra en los virus de la Hepatitis A, B y C, pero no hay reportes específicos de la hepatitis E, sin embargo anualmente se reporta un gran número de casos de hepatitis vírica sin especificar, solo de enero 2016 a enero 2017 se han reportado 8982 casos, en los cuales no está definido el agente etiológico (2, 3).

En México, nuestro grupo de trabajo ha reportado una alta seroprevalencia del VHE en poblaciones porcinas (59.4% en total en las tres áreas geográficas [Norte, Centro y Sur]) (4), nuestros resultados coinciden con lo publicado en 2016 por Merino y Cols (5), quienes reportan una alta incidencia en cerdos (30.75%), siendo Querétaro y el Estado de México, los sitios donde se encuentra el mayor número de casos.

Sotomayor y col, 2018 (6), reporta el primer genoma del VHE, en México, en cerdos en una granja del Estado de México. Estos resultados concuerdan con lo reportado por otros autores donde es posible encontrar la presencia del virus en los cerdos de engorda de 12 semanas, edad en la que se presenta el pico de eliminación del virus durante la producción. En este mismo estudio se analizaron muestras de otras etapas como maternidad, destete y gestación, en donde también se encontraron muestras positivas; lo cual implicaría una circulación constante de virus en la granja por todas las etapas. Es importante conocer más acerca de la dinámica de transmisión del virus dentro del ciclo productivo y realizar la vigilancia epidemiológica tanto en cerdos como en humanos.

Efectos de la Inmunosupresión Viral.

Los virus han desarrollado numerosas estrategias para enfrentar y evadir la respuesta inmune antiviral del hospedador. Dentro de los principales mecanismos de evasión se encuentran. 1. Restricción del efecto viral citolítico y establecimiento de infecciones persistentes. 2. Generación de variantes virales. La evolución de los virus de RNA está determinada por su alta variabilidad. La alta tasa de mutación y la recombinación tanto entre homólogos como no homólogos permiten la generación elevada de secuencias nuevas. Muchas mutaciones pueden ser deletéreas y eliminadas por selección natural, pero otras se seleccionan con base en el ambiente particular en el que el virus se esté replicando (respuesta inmune del hospedero y el efecto de agentes antivirales), de esta forma las mutaciones pueden llegar a ser dominantes en la población. 3. Inmunosupresión, los virus que causan enfermedades inmunodepresoras lesionan los tejidos y órganos del sistema inmune, disminuyendo así los mecanismos de defensa frente a otros patógenos. Dentro de los efectos principales de la inmunosupresión se encuentran, el aumento en la susceptibilidad a otras enfermedades infecciosas, reflejado en el aumento de los problemas de tipo respiratorio, reducción de la respuesta a las vacunas aplicadas, y reducción de los parámetros de rendimiento, observándose un aumento en la mortalidad (7).

Del conocimiento que se tenga sobre la respuesta inmune antiviral y de los mecanismos de escape utilizados por los virus, dependerá la identificación de nuevos blancos moleculares para el desarrollo oportuno de agentes antivirales, así como también para el diseño de vacunas antivirales.

#### Bibliografía.

1. <http://www.who.int/csr/don/24-january-2017-hepatitis-e-chad/es/OMS>
2. <http://www.gob.mx/salud/documentos/direccion-general-de-epidemiologia-informes-de-morbilidad->
3. [http://187.191.75.115/gobmx/salud/documentos/manuales/11\\_Manual\\_HepatitisVirales.pdf](http://187.191.75.115/gobmx/salud/documentos/manuales/11_Manual_HepatitisVirales.pdf)
4. García-Hernández ME., Cruz-Rivera M., Sánchez-Betancourt JI., Rico-Chávez O., Vergara-Castañeda A., Trujillo ME., Sarmiento-Silva RE. Seroprevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in domestic pigs in Mexico. BMC Vet Res. 2017 Sep 21;13(1):289. doi: 10.1186/s12917-017-1208-z.

5. Merino Ramos T., Martín-Aceves MA., Casal J., Saiz JC. & Loza-Rubio E. 2016. Prevalence of Hepatitis E Virus (HEV) Antibodies in Mexican Pigs. *Food Environ Virol*, 8, 156-9.
6. Sotomayor-González A, Trujillo-Ortega ME, Taboada-Ramírez BI, Sandoval-Jaime C, Sarmiento-Silva RE. Phylogenetic Analysis and Characterization of the Complete Hepatitis E Virus Genome (Zoonotic Genotype 3) in Swine Samples from Mexico. *Viruses*. 2018 Jul 26;10(8). pii: E391. doi: 10.3390/v10080391.Fields
7. Fields Virology. 6<sup>rd</sup> edition. Edited by: Fields B. et al. Raven Publishers. Philadelphia 2017.

# MECANISMOS DE EVASION VIRAL: PRRSV, PEDV Y CIRCOVIRUS

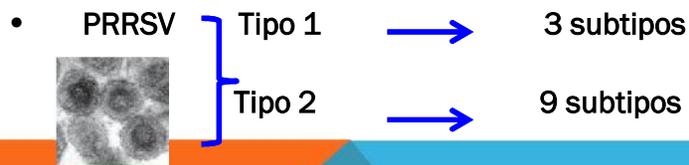


Fuente: RBF

DRA . ROSA ELENA SARMIENTO SILVA  
FMVZ , UNAM .

# PRRSV

- El síndrome reproductivo y respiratorio porcino es una enfermedad que causa fallas reproductivas en las cerdas y enfermedades respiratorias en cerdos jóvenes.
- Prevención del PRRS en cerdas es fundamental para evitar el paso del virus a los cerdos susceptibles a través de la transmisión vertical y horizontal.
- El PRRSV es un *Arterivirus* que se descubrió casi simultáneamente en 1991 en el continente europeo y norteamericano, lo que condujo a la clasificación de PRRSV de tipo 1 y 2, respectivamente.
- Estudios genéticos han revelado que este virus tiene una de las tasas de mutación más altas conocidas para un virus RNA (SS+): tasa evolutiva informada de  $4.7-9.8 \times 10^{-2}$ /sitio/año.
  - Este cambio constante es un obstáculo importante para desarrollar una vacuna protectora contra cepas de campo genéticamente diversas.



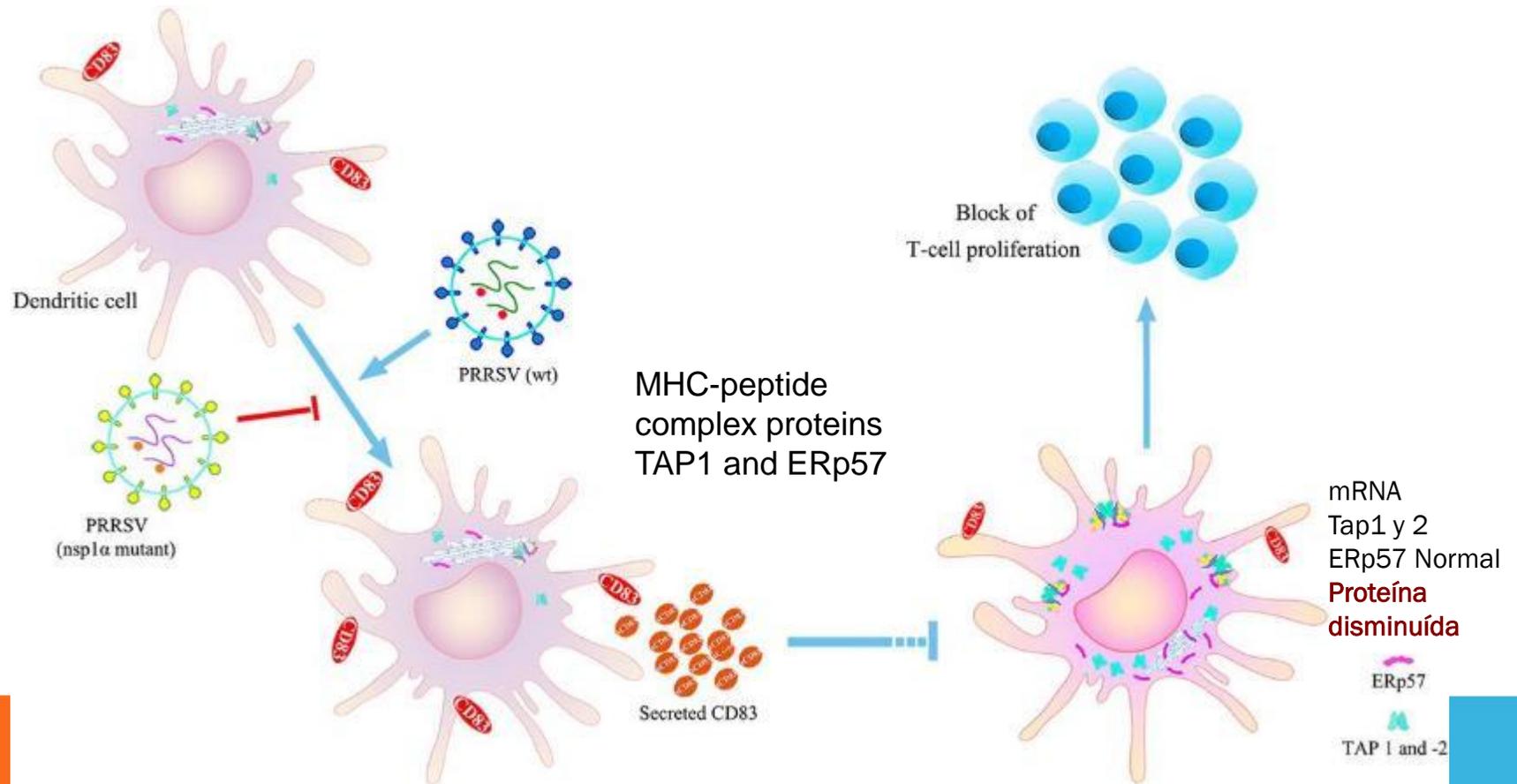
- Las vacunas disponibles comercialmente se lanzaron por primera vez en 1994, a partir de virus inactivados (KV) [Suvaxyn (Cyblue®) o atenuados (MLV) (PRRSV-MLV).

## INMUNOSUPRESIÓN PRRSV

- Regulación negativa de la inmunidad adaptativa.
- La inmunosupresión es el resultado de varios factores:
  - Perturbación del desarrollo de células monocito/macrófago.
  - Reducción de las citocinas antivirales e inflamatorias
  - Aumento de la secreción de citoquinas inmunosupresoras.
- Regulación negativa de la expresión de MHC y co-estimulación en células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC), suprimiendo de ese modo la proliferación y diferenciación de células B, T y NK.
- INCREMENTO EN LA EXPRESIÓN Y LIBERACIÓN DE CD83  
Xi Chen, et al. J Virol. 2018 Jul 17;92(15).

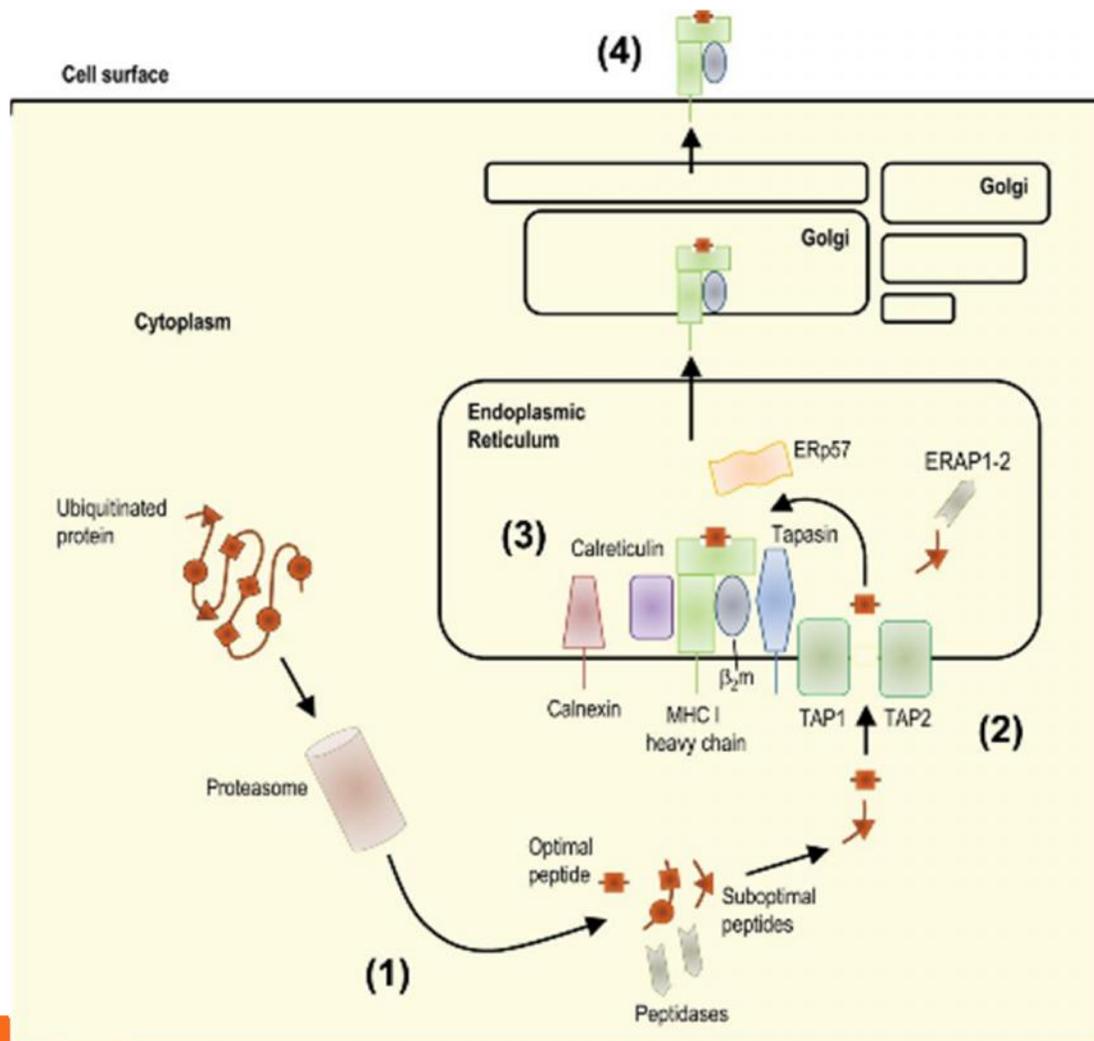


Inhibitory effects of PRRSV infection on MoDC activity are mediated by soluble CD83.



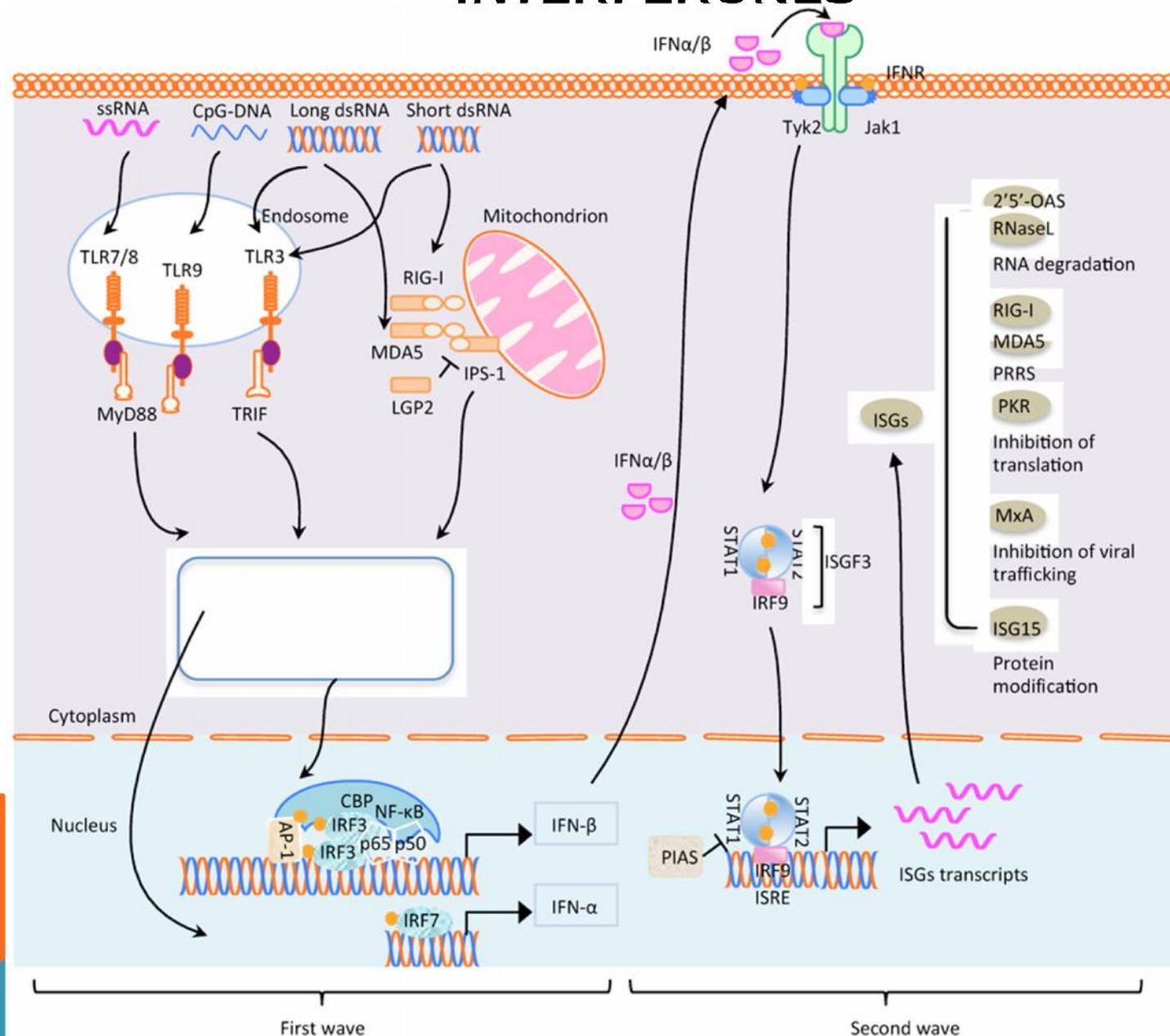
Viruses containing mutations in L5A, D6A, G45A, G48A, L61A, P62A, R63A, F65A, and P66A do not affect CD83 expression or depress the ability of MoDCs to stimulate T cell proliferation.

Xi Chen et al. J. Virol. 2018; doi:10.1128/JVI.00366-18

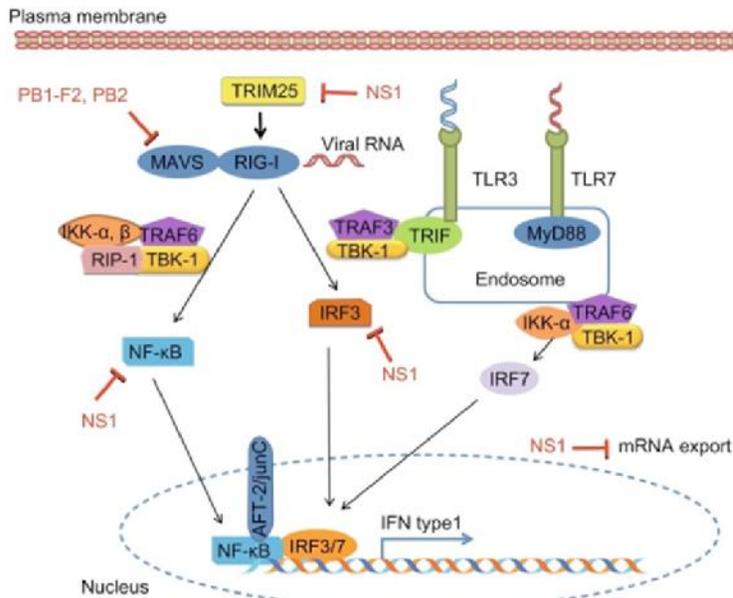


From: MHC Class I Antigen Processing and Presenting Machinery: Organization, Function, and Defects in Tumor Cells  
 J Natl Cancer Inst. 2013;105(16):1172-1187. doi:10.1093/jnci/djt184  
 J Natl Cancer Inst | © The Author 2013. Published by Oxford University Press. All rights reserved. For Permissions, please e-mail:  
 journals.permissions@oup.com.

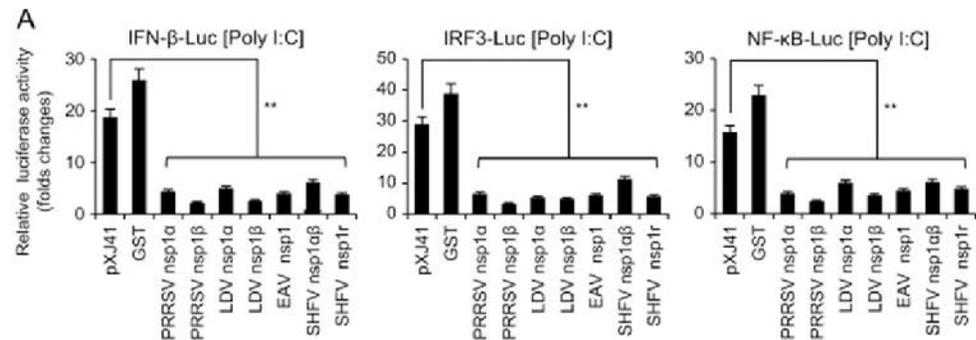
# INTERFERONES



# INMUNOSUPRESIÓN PRRSV



Antagonista IFN	Efecto IRF3
	1. Degradación
	2. Inhibir fosforilación
	3. Bloquear la translocación nuclear

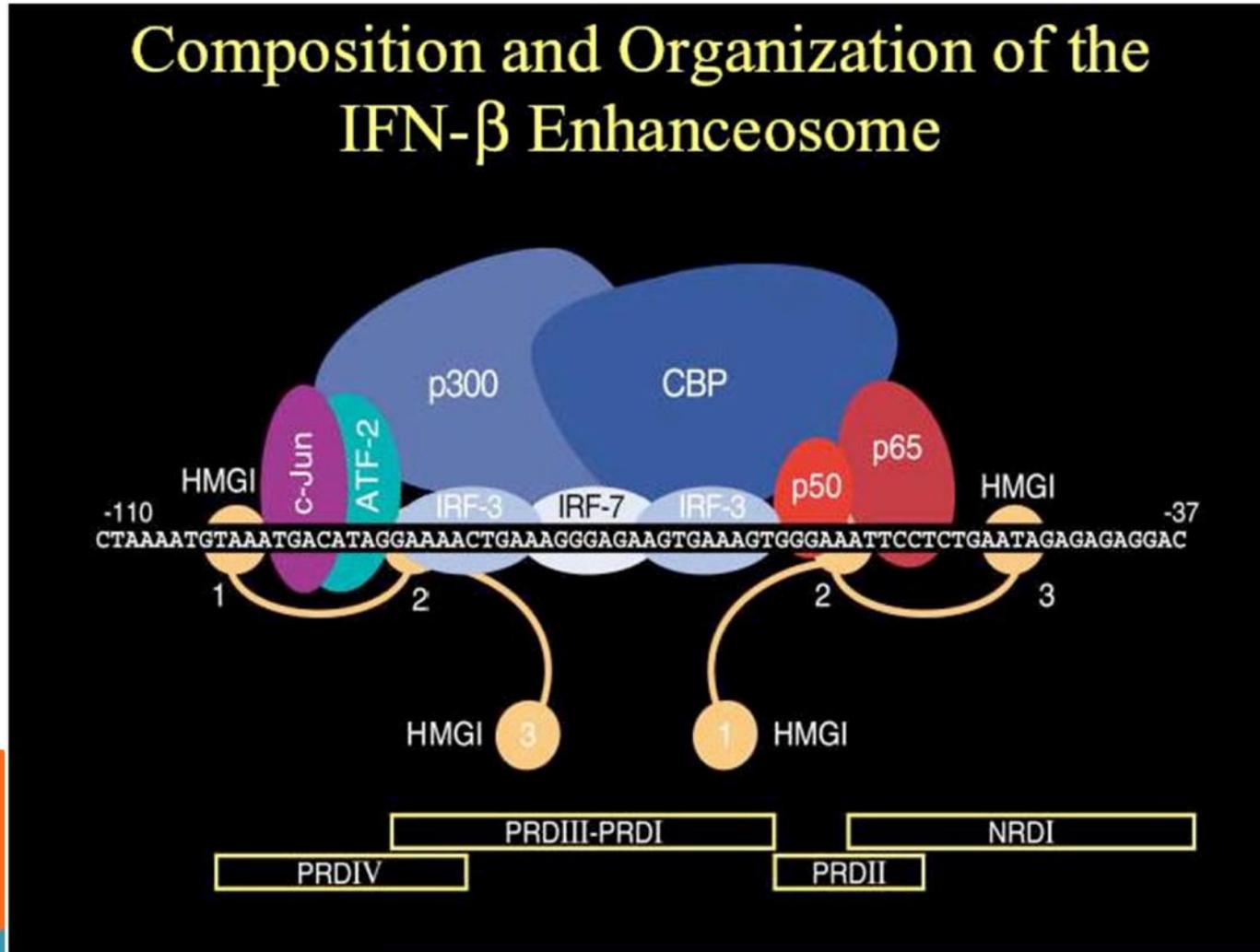


- Cuando se estimula la inducción de IFN, IRF3 es fosforilado por IKKε y/o TBK1 quinasas, esto promueve la dimerización y el cambio conformacional, exponiendo la señal de localización nuclear (NLS).

- Nsp1 subunidad β en el aislado de PRRSV tipo 2 SD95-21 inhibe la producción de interferón (IFN) al restringir la fosforilación de IRF3 mediada por ARN de doble cadena (dsRNA) y la translocación nuclear.

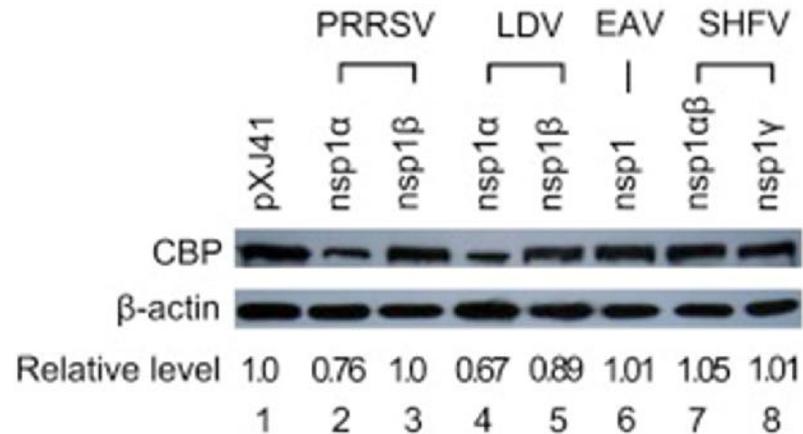
# INTERFERONES

La translocación del IRF3 promueve la formación del enhanceosoma



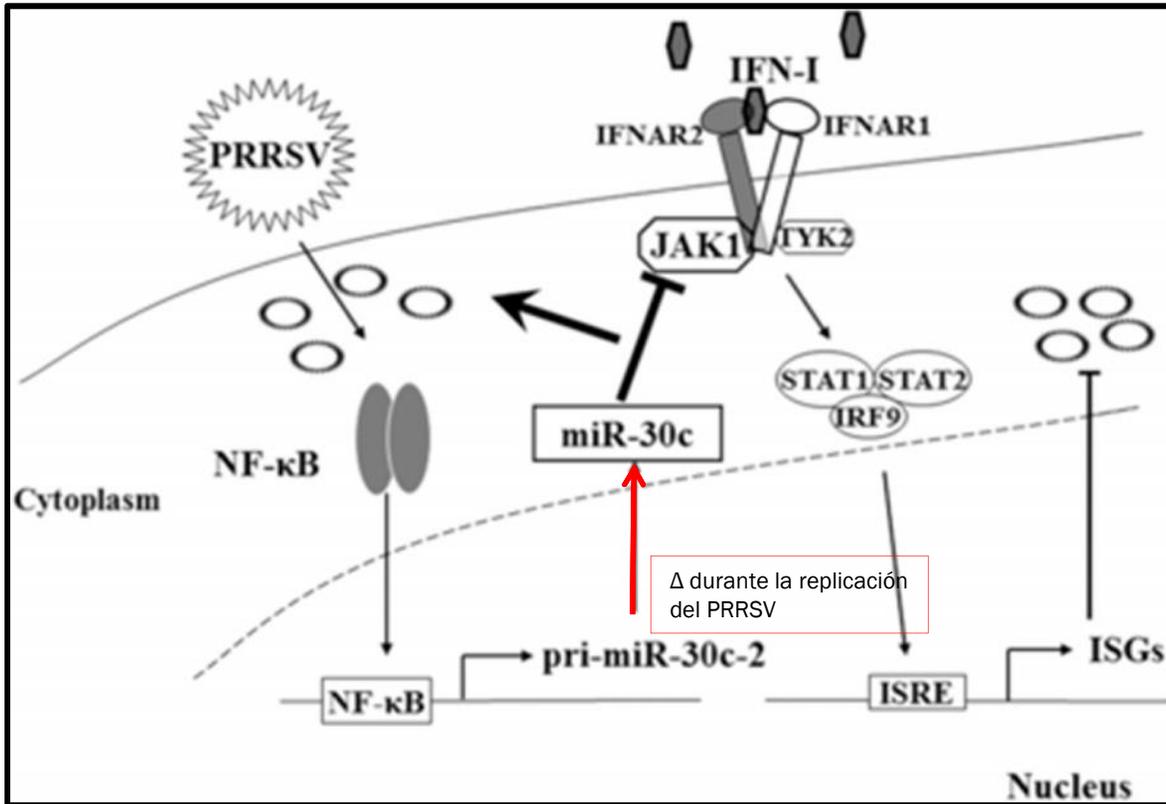
# INTERFERON

- La proteína no estructural (nsp) 1 de PRRSV se ha identificado como un antagonista de IFN viral.



- Se ha demostrado que la subunidad nsp1α degrada la proteína de unión a CREB (CBP) y para inhibir la formación de enhanceosoma, lo que da como resultado la supresión de la producción de IFN.

[MingyuanHan et al. 2014](#)



JAK1 (Chimpanzee): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'  
 JAK1 (Homo): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'  
 JAK1 (Rhesus): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'  
 JAK1 (Mouse): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'  
 JAK1 (Canis): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'  
 JAK1 (Sus): 5'-ACUCUAUAUGCACUUUGUUUACU-3'

- miR-30c could target JAK1 through a site in the 3'UTR region conserved in mammals

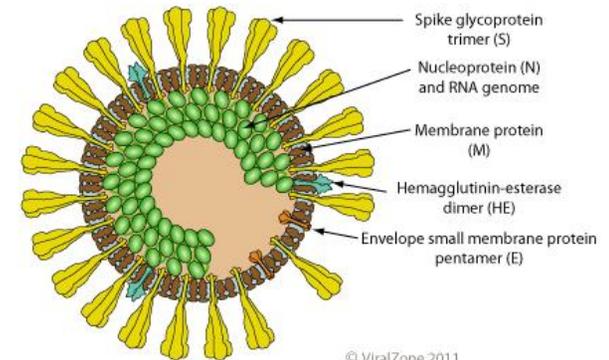
# INMUNOSUPRESIÓN PRRSV

- Nsp1 alfa y beta de PRRSV FL12 suprime TNF alfa cvía NFκB
- La proteína N de la cepa BB0907 de PRRSV participa en la inducción de IL-10, que estimula el desarrollo de Tregs y debilita la proliferación de células T en el huésped .

# INMUNOSUPRESIÓN PEDV

## VIRION

Murine Hepatitis Virus (MHV)

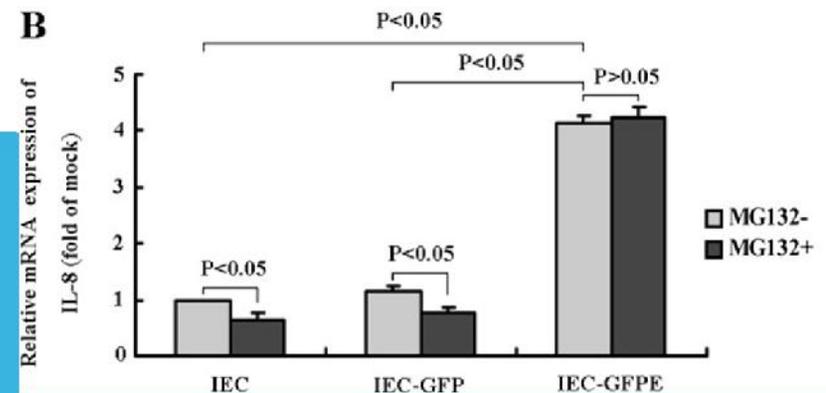
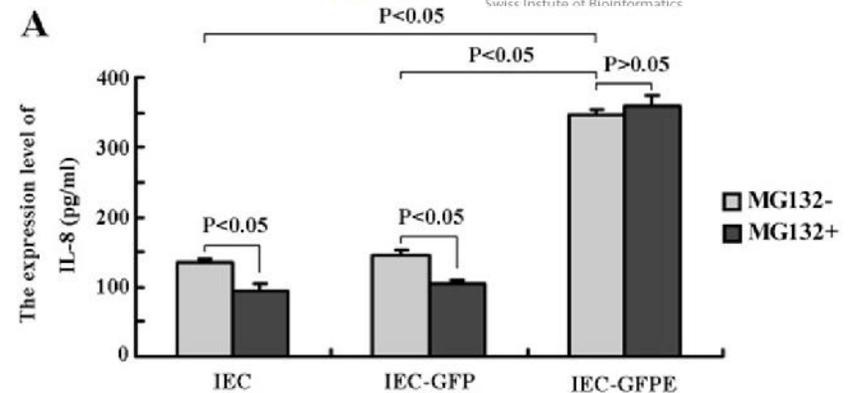
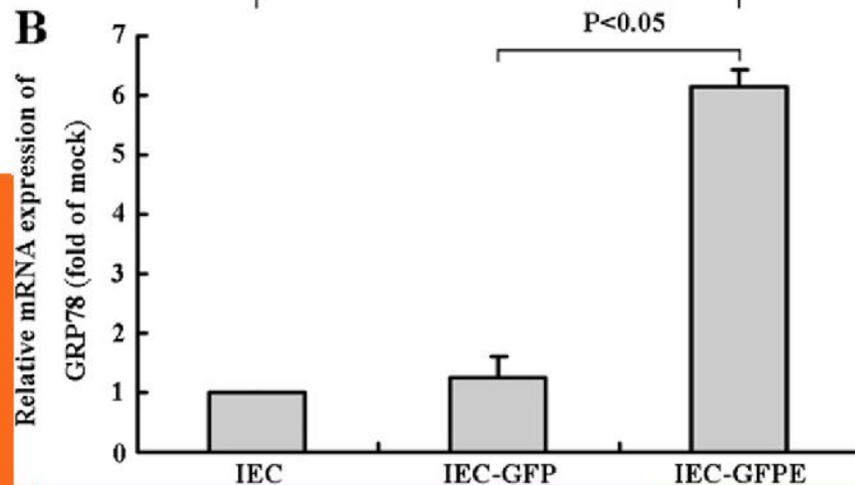
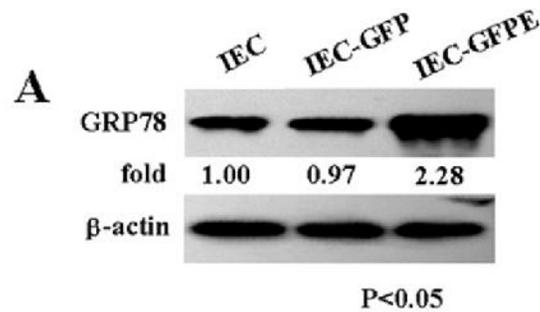


© ViralZone 2011  
Swiss Institute of Bioinformatics

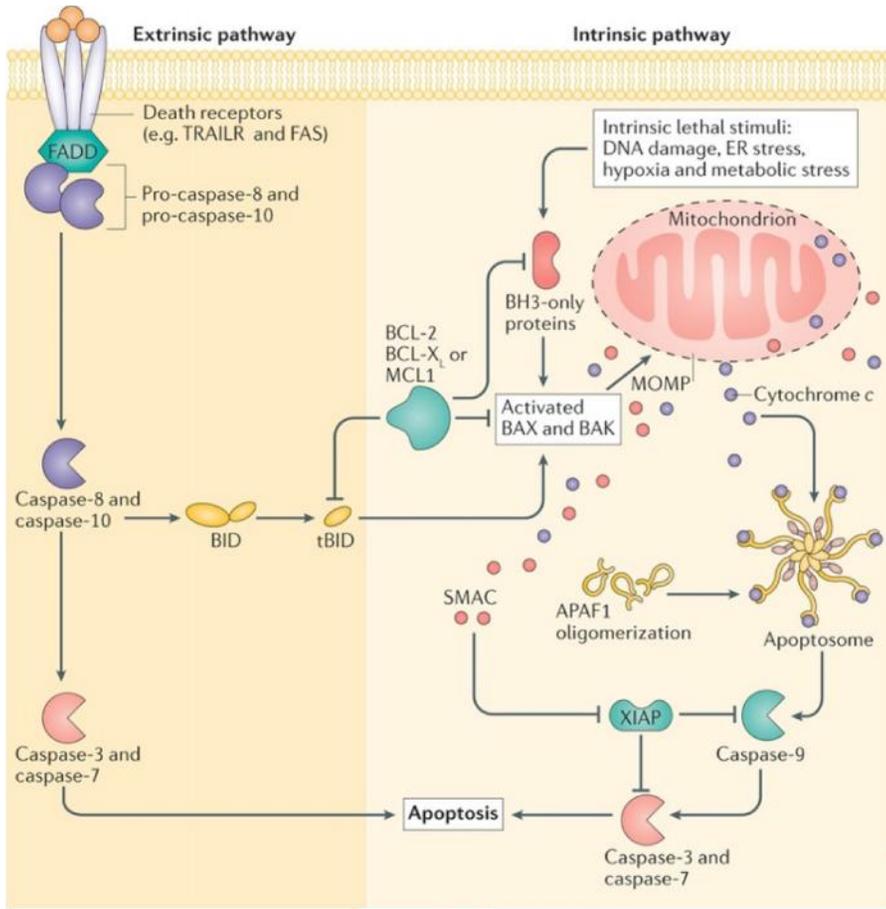
N inhibe significativamente la producción de IFN tipo I en células HEK 293.

Proteína E produce estrés de RE a través de la inducción de la proteína GRP78 and NF- $\kappa$ B y altera la síntesis de IL8

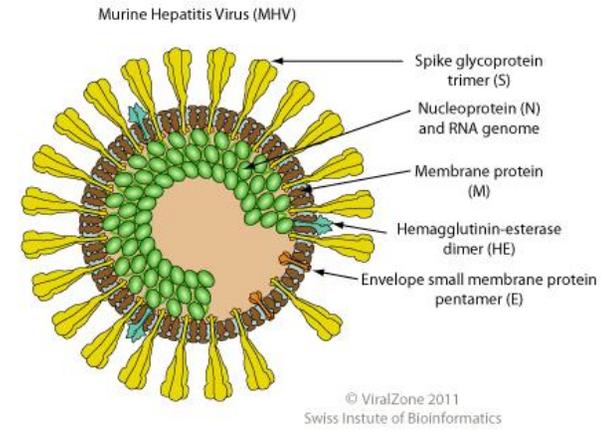
GRP78 es una proteína multifuncional, regula la concentración de calcio, activa muerte celular programada? e induce Bcl2



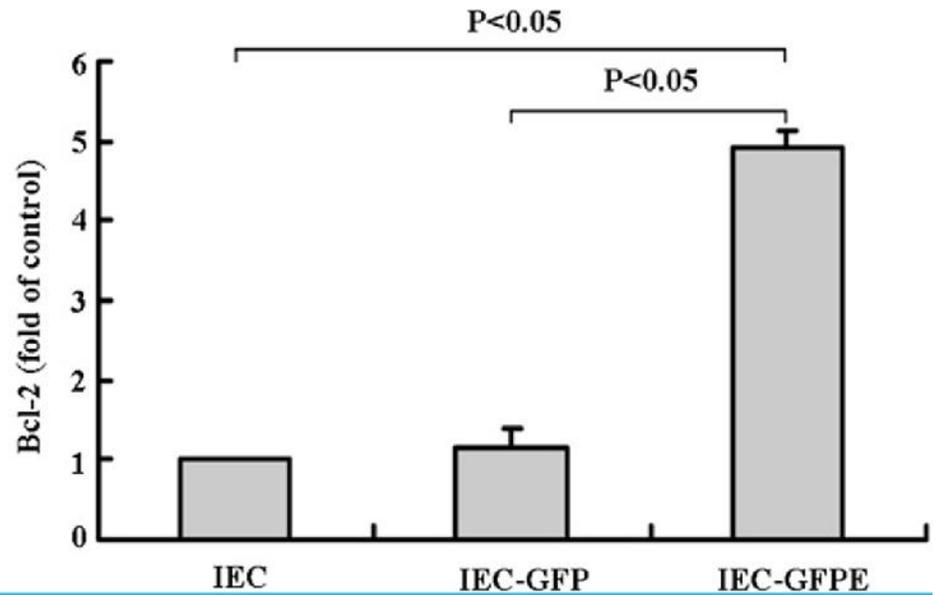
# INMUNOSUPRESIÓN PEDV



## VIRION



Relative mRNA expression of



# CIRCOVIRUS

El circovirus porcino (PCV) es miembro de la familia *Circoviridae*, DNAss, sin envoltura, con simetría icosaédrica.

PCV tiene dos marcos principales de lectura abierta (ORF), ORF1 que codifica la replicasa del virus (Rep) y ORF2 que codifica la única cápside (Cap).

PCV no patogénico tipo 1 (PCV1) y el PCV tipo 2 patógeno (PCV2).

PCV2 se aisló de cerdos con síndrome de desgaste multisistémico posdestete (PMWS), una enfermedad que se caracteriza por pérdida de peso progresiva, emaciación, dificultad para respirar e ictericia.

Este virus también está asociado con otras enfermedades como dermatitis porcina y síndrome de nefropatía (PDNS), temblores congénitos tipo A2 (CT), trastornos reproductivos, miocarditis prenatal y neumonía proliferativa y necrosante, denominadas colectivamente "enfermedad asociada al circovirus porcino" (PCVAD).

PCV2 es el principal patógeno causante de la enfermedad asociada a PCV (PCVAD), que se encuentra entre las enfermedades más importantes desde el punto de vista económico.

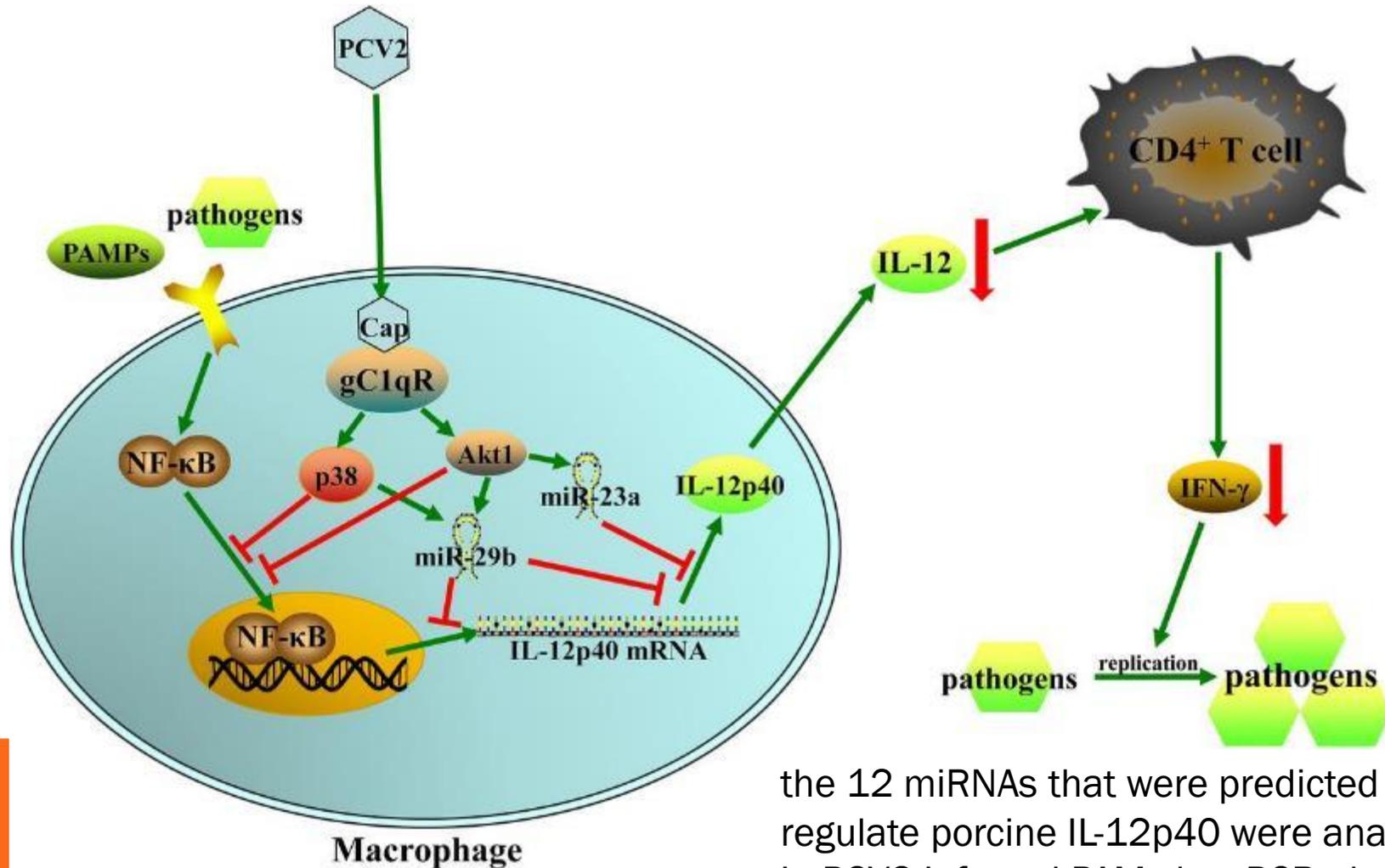
PCVAD es una enfermedad multifactorial que generalmente se observa en una coinfección de PCV2 con otros patógenos, como el PRRSV, parvovirus porcino o *Haemophilus parasuis*.

La infección por PCV2 es necesaria para la aparición de PCVAD, pero la infección por PCV2 sola rara vez produce el espectro completo o la gravedad de la enfermedad

# INMUNOSUPRESIÓN CIRCOVIRUS

- IL-12, desempeña un papel fundamental en la generación de la respuesta inmune Th1 para combatir la infección por patógenos.
- IL-12 es heterodimérica de 70 kDa compuesta de subunidades p35 y p40 y producida por APC, que incluye monocitos/macrófagos, células dendríticas y células B.
- La regulación de IL-12p40 se considera más crítica para la producción de IL-12, en comparación con IL-12p35 que no puede secretarse sin unirse a IL-12p40.  
IL-12p40 desempeña un papel más dominante en la promoción del desarrollo de células Th1.
- Estudios han demostrado que la infección por PCV2 inhibe la expresión de IL-12p40 tanto *in vivo* como *in vitro*.

**Model of PCV2 infection inhibits IL-12p40 expression in PAMs to further suppress host Th1 immune response.**



the 12 miRNAs that were predicted to regulate porcine IL-12p40 were analyzed in PCV2-infected PAMs by qPCR. the expression levels of miR-23a, miR-23b, miR-29a, and miR-29b were significantly upregulated in PCV2-infected

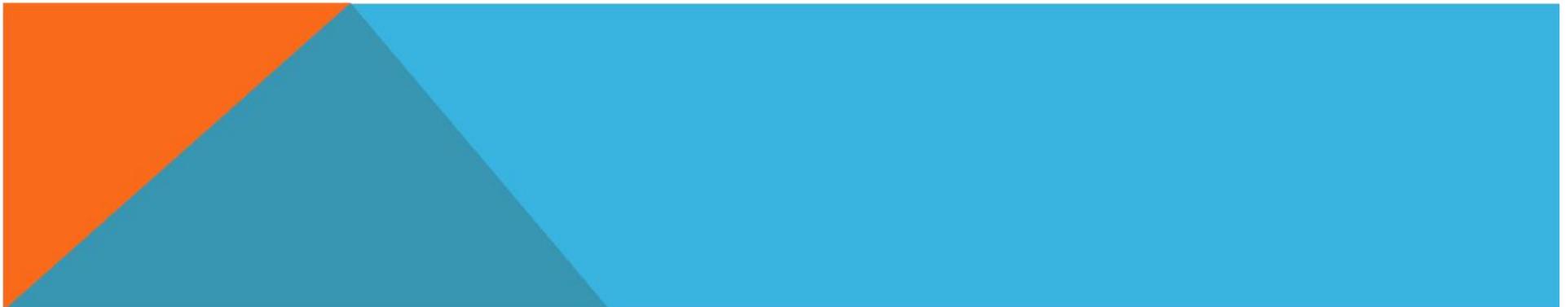
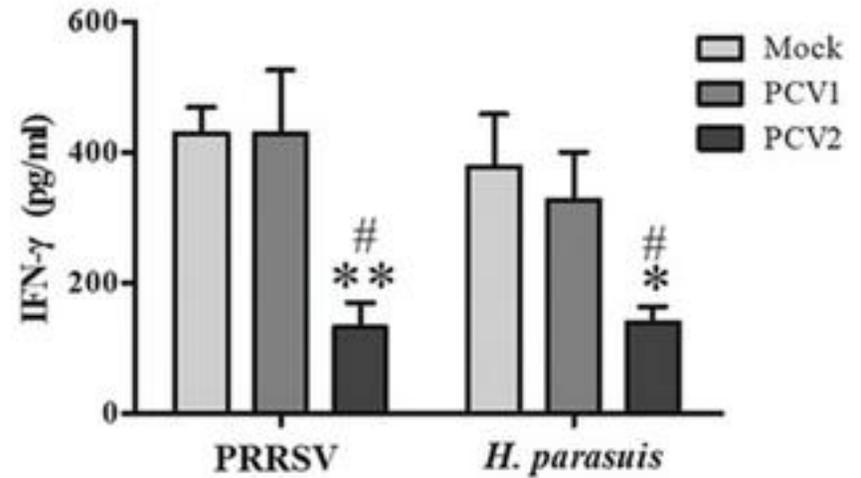
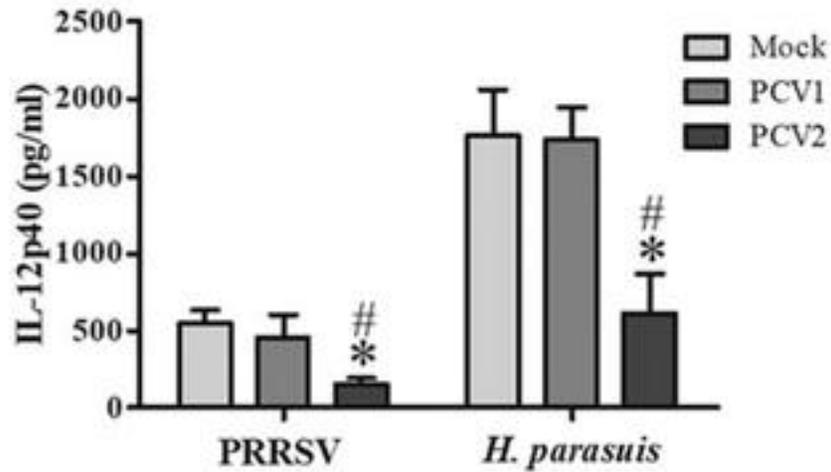
Qian Du et al. J Immunol 2018;201:533-547



6 weeks

PCV1 ( $4 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>), PCV2 ( $4 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>), or mock (same volume DMEM), 1 week.

Then the pigs were further challenged with PRRSV ( $10^5$  TCID<sub>50</sub>) or *H. parasuis* ( $10^8$  CFU) for another 24 h.





# Fecal Microbiota Transplantation Is Associated With Reduced Morbidity and Mortality in Porcine Circovirus Associated Disease

Megan C. Niederwerder<sup>1\*</sup>, Laura A. Constance<sup>1</sup>, Raymond R. Rowland<sup>1</sup>, Waseem Abbas<sup>2</sup>, Samodha C. Fernando<sup>2</sup>, Megan L. Potter<sup>3</sup>, Maureen A. Sheahan<sup>1</sup>, Thomas E. Burkey<sup>2</sup>, Richard A. Hesse<sup>1,4</sup> and Ada G. Cino-Ozuna<sup>1,4</sup>

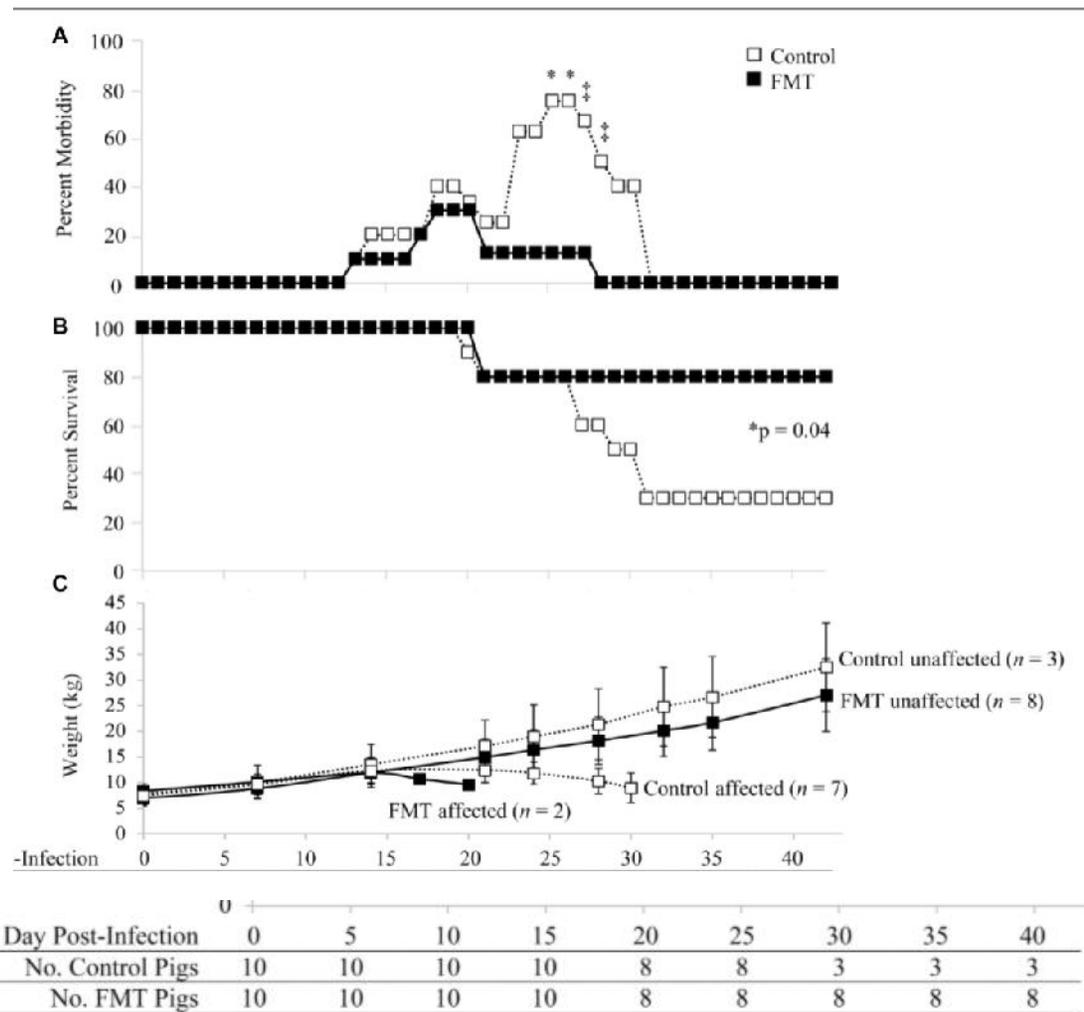
FMT de hembras  
multíparas con  
antecedentes  
estatus sano

**Table 1**

Microorganisms detected in the fecal microbiota transplant material by the pan-microbial detection array.\*

Phylum <sup>†</sup>	Family	Genus species
Actinobacteria	<i>Bogoriellaceae</i>	<i>Georgenia</i> sp.
	<i>Nocardiaceae</i>	<i>Rhodococcia rhodnii</i>
Amoebozoa	<i>Entamoebidae</i>	<i>Entamoeba nuttalli</i>
Bacteroidetes	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides graminisolvens</i> , <i>Bacteroidetes bacterium</i>
	<i>Cyclobacteriaceae</i>	<i>Algoriphagus marincola</i>
	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i> sp.
	<i>Rikenellaceae</i>	<i>Rikenella microfusis</i>
Basidiomycota	<i>Ceratobasidiaceae</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
Euryarchaeota	<i>Methanobacteriaceae</i>	<i>Methanobrevibacter oralis</i> , <i>Methanobrevibacter smithii</i>
Firmicutes	<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Alkalibacterium</i> sp.
	<i>Clostridiaceae</i>	<i>Candidatus Clostridium anorexicamassiliense</i> , <i>Clostridiaceae bacterium</i> , <i>Clostridium</i> sp.
	<i>Clostridiales</i>	<i>Clostridiales bacterium</i>
	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Lachnospiraceae bacterium</i>
	<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus amylovorus</i>
	<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Clostridium bifermensans</i> , <i>Clostridium manganotii</i>
Fusobacteria	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Psychrilyobacter atlanticus</i>
Proteobacteria	<i>Anaplasmataceae</i>	<i>Candidatus Xenolissoclinum pacificensis</i>
	<i>Bradyrhizobiaceae</i>	<i>Bosea</i> sp., <i>Bradyrhizobium</i> sp.
	<i>Campylobacteraceae</i>	<i>Campylobacter</i> sp., <i>Sulfurospirillum arcachonense</i>
	<i>Desulfovibrionaceae</i>	<i>Desulfovibrio alkaltolerans</i>
	<i>Helicobacteraceae</i>	<i>Helicobacter pametensis</i>
	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella lansingensis</i>
	<i>Piscirickettsiaceae</i>	<i>Thiomicrospira kuenenii</i> , <i>Thiomicrospira</i> sp.
	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Rhizobacter</i> sp.
	<i>Sphingomonadaceae</i>	<i>Sphingomonas</i> sp.
	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Candidatus Photodesmus katoptron</i>
	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Ignatzschineria larvae</i> , <i>Xanthomonadaceae bacterium</i>
Spirochaetes	<i>Spirochaetaceae</i>	<i>Borrelia parkeri</i> , <i>Spirochaeta</i> sp., <i>Treponema pedis</i> , <i>Treponema</i> sp.
Synergistetes	<i>Synergistaceae</i>	<i>Aminiphilus circumscriptus</i>
Tenericutes	<i>Acholeplasmataceae</i>	<i>Acholeplasma equifetale</i> , <i>Acholeplasma granularum</i>
	<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasma conjunctivae</i> , <i>Mycoplasma fermentans</i> , <i>Mycoplasma iowae</i>
	<i>Spiroplasmataceae</i>	<i>Spiroplasma apis</i>

\*Only those microbes identified at the phylum, family, and genus level are included. <sup>†</sup>Organized alphabetically by phylum; order listed when family unidentifiable.



In 2017, a microbiome therapeutic utilizing a mixture of four gut bacteria, including *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Veillonella*, and *Rothia* (FLVR), was announced for preventing childhood asthma and potentially other childhood allergic diseases (Arrieta et al., 2015)

**¡GRACIAS!**



# DETECCIÓN MOLECULAR Y CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL VIRUS DE HEPATITIS E EN MÉXICO



# ANTECEDENTES

## Epidemia en Cachemira en 1978

- 52,000 casos de hepatitis icterica
- 1.700 muertes

## Características clínicas y epidemiológicas únicas

- Transmisión por agua
- No casos clínicos secundarios
- Adultos jóvenes
- Aumento de la incidencia y gravedad en mujeres embarazadas
- Enfermedad autolimitada

Poblado de Cachemira, India.

Dr. Balayan en la fotografía.



Dr. Balayan. Ingestión del brote e identificación del agente causal.

VHE en humanos

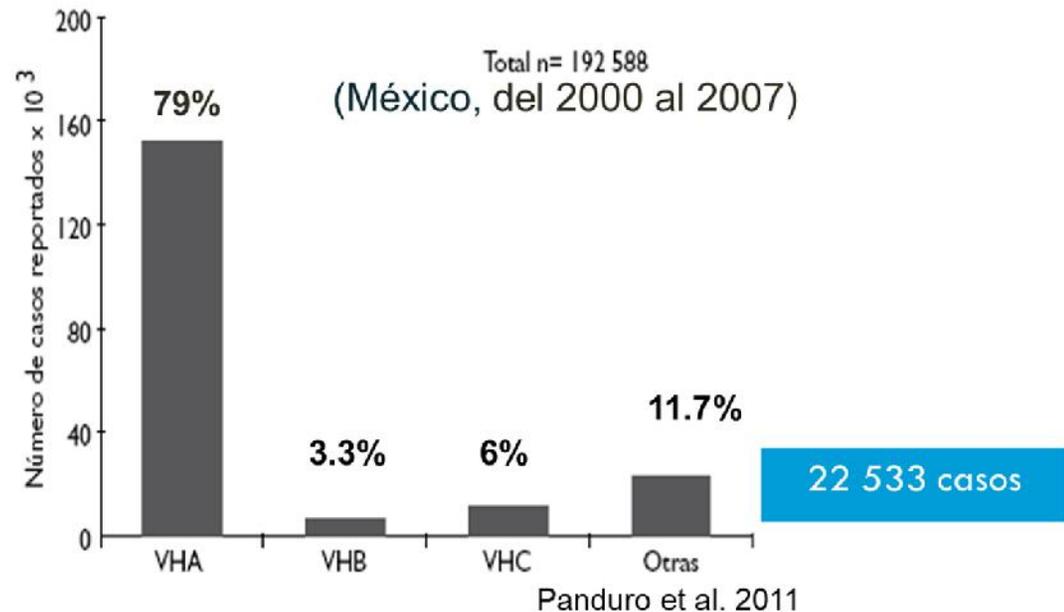
Hepatitis virales=causas principales de daño hepático alrededor del mundo y en México

Problema de salud pública emergente en los países en desarrollo=epidemias

# ANTECEDENTES (MÉXICO)

1986

- Hepatitis aguda
- Huitzililla (Morelos)
  - 94 pacientes ictericos
  - dos mujeres no embarazadas murieron
  - asociaron la enfermedad con el agua
- Telixtac (Morelos)
  - 129 casos, de los cuales
  - una mujer falleció
  - una mujer embarazada tuvo un parto prematuro
- Inmuno-electromicroscopía- partículas tipo virales de 32 a 34 nm
  - HT-NANB reportados en Asia



Velazquez, *et al.*, 1990.  
Control, 1987.  
Aggarwal, *et al.*, 2013.  
Panduro, *et al.* 2011.

# ETIOLOGÍA

[-] Genus: *Orthohepevirus*

★ Species: *Orthohepevirus A*

Species: *Orthohepevirus B*



Species: *Orthohepevirus C*



Species: *Orthohepevirus D*

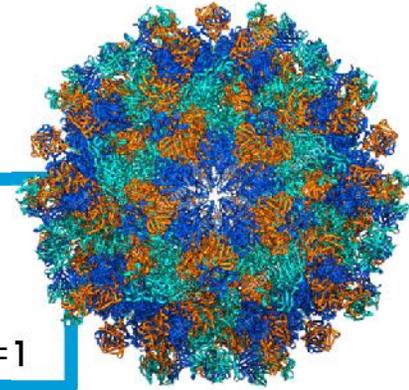


[+] Genus: *Piscihepevirus*



- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.

- ssRNA +
- 27-34 nm de diámetro
- Sin envoltura
- Simetría icosaédrica T=1

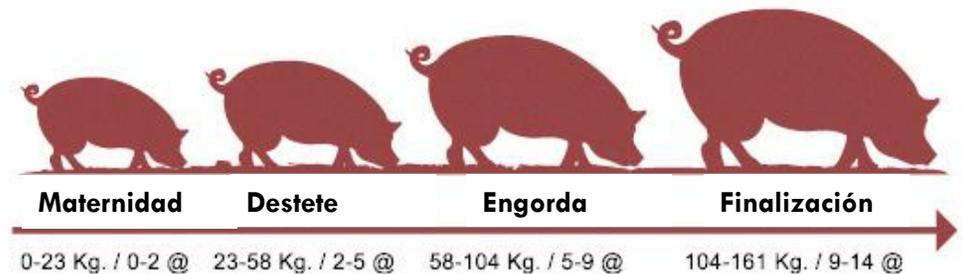


A-J

- Diferentes distribuciones a nivel mundial
- Diferente presentación Clínica
  - Humanos- hepatitis aguda a crónica
  - Cerdos- asintomática

Yamashita, *et al.*, 2009.  
Behrendt, *et al.* 2014.  
Perez-Gracia, *et al.*, 2015.

# HEPATITIS E EN EL CERDO



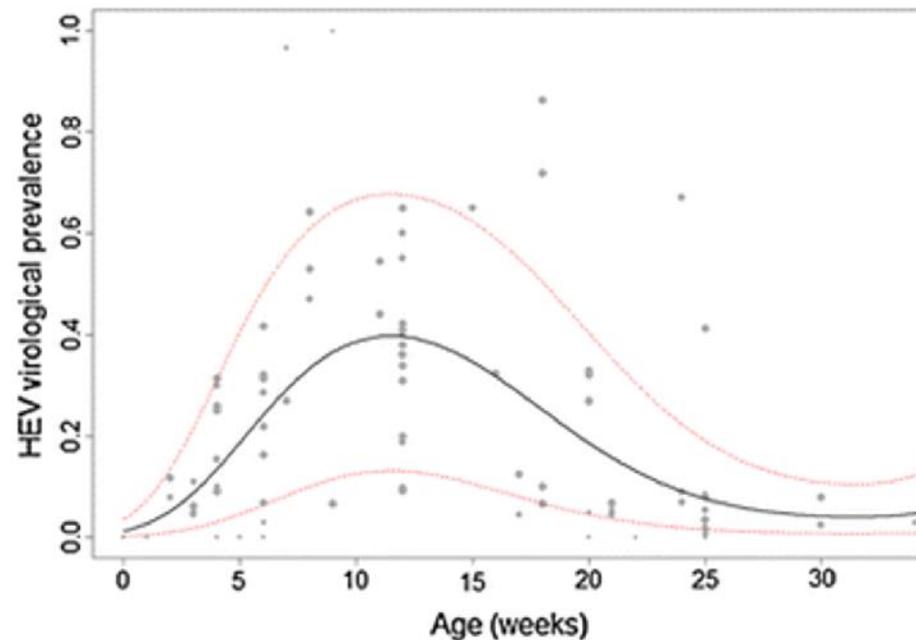
- Ausencia de signos clínicos



No asociado a pérdidas económicas

- Mayor eliminación de la 10<sup>a</sup> a la 12<sup>a</sup> semana

Prevalencia predictiva en heces de acuerdo a la edad del animal.  
(Salines, *et al.*, 2017)





# OBJETIVOS

## ■ GENERAL:

- Demostrar la **presencia del virus de hepatitis E** y llevar a cabo la **caracterización molecular** completa del virus obtenido a partir de órganos de cerdos provenientes de diferentes etapas productivas en granjas, de rastros y puntos de venta para consumo en humanos.

## ■ Específicos:

- **Identificar el genoma** del VHE en muestras de hígado, bilis y heces de cerdos.
- Obtención del **genoma completo** de las muestras positivas por PCR.
- Establecer la **relación genética** entre virus reportados en México y secuencias reportadas en diversas regiones del mundo.

# METODOLOGÍA

## MUESTREO EN GRANJA Y NECROPSIA

4 rastros

- 3 Veracruz
- 1 Estado de México

Granja de ciclo completo

- Estado de México
  - Bilis
  - Hígado
  - Heces



ID del Pool	Tipo de muestra	Número de muestras	de Procedencia
G1 (gestación)	Hisopo rectal	10	Granja
G2 (gestación)	Hisopo rectal	10	Granja
G3 (gestación)	Hisopo rectal	10	Granja
D1 (destete)	Hisopo rectal	10	Granja
D2 (destete)	Hisopo rectal	10	Granja
D3 (destete)	Hisopo rectal	10	Granja
E1 (engorda)	Hisopo rectal	10	Granja
E2 (engorda)	Hisopo rectal	10	Granja
E12 (engorda 12 semanas de edad)	Hisopo rectal	10	Granja
M1 (maternidad)	Hisopo rectal	10	Granja
M2 (maternidad)	Hisopo rectal	10	Granja
M3 (maternidad)	Hisopo rectal	10	Granja
R (reemplazos)	Hisopo rectal	10	Granja
S (sementales)	Hisopo rectal	10	Granja
H1	Hígado	3	Necropsia
H2	Hígado	4	Necropsia
H3	Hígado	1	Necropsia
B1	Bilis	4	Necropsia
B2	Bilis	4	Necropsia
C1	Heces	4	Necropsia
C2	Heces	4	Necropsia

# METODOLOGÍA

## DETECCIÓN DEL GENOMA VIRAL POR RT-PCR



Instituto de Biotecnología  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



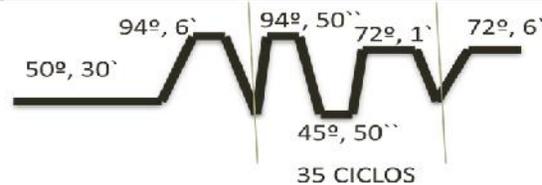
### PCR

- Región conservada de ORF2 (212 pb, de Deus, 2007; 348 pb, Huang, 2002)
- Qiagen OneStep RT-PCR
- Superscript II + Taq Platinum

Electroforesis  
horizontal en  
gel

Purificación  
E-Gel  
SizeSelect  
2%

**Extracción de RNA**  
Fenol-cloroformo (Gibco  
Life Technologies 1996)



# RESULTADOS RT-PCR

Muestras positivas por la técnica de RT-PCR.

Rastro: 1/64 (1.56%)

Granja: 14/21 (66.66%)

H= Hígado

B= Bilis

C=Heces

ID	No. De muestras	Tipo de muestra	Origen	Etapa de producción	Resultados de RT-PCR
1	16	Hígado, bilis y heces	Rastro	Engorda	N
2	16	Hígado, bilis y heces	Rastro	Engorda	N
3	16	Hígado, bilis y heces	Rastro	Engorda	P*
4	16	Hígado, bilis y heces	Rastro	Engorda	N
G1	10	Heces	Granja	Gestación	P
G2	10	Heces	Granja	Gestación	N
G3	10	Heces	Granja	Gestación	P
D1	10	Heces	Granja	Destete	P
D2	10	Heces	Granja	Destete	P
D3	10	Heces	Granja	Destete	P
E1	10	Heces	Granja	Engorda	N
E2	10	Heces	Granja	Engorda	P
E12	10	Heces	Granja	Engorda	P
M1	10	Heces	Granja	Maternidad	N
M2	10	Heces	Granja	Maternidad	P
M3	10	Heces	Granja	Maternidad	N
R	10	Heces	Granja	Reemplazos	N
S	10	Heces	Granja	Sementales	N
H1	3	Higado	Granja	Engorda	P
H2	4	Higado	Granja	Engorda	P
H3	1	Higado	Granja	Engorda	P
B1	4	Bilis	Granja	Engorda	P
B2	4	Bilis	Granja	Engorda	P
C1	4	Heces	Granja	Engorda	P
C2	4	Heces	Granja	Engorda	N

\*Solo una bilis positiva

# SECUENCIACIÓN MASIVA DE MUESTRAS DE CERDO

- 5 muestras fueron enviadas a la Unidad de Secuenciación Masiva para ser procesadas con el objetivo de obtener la secuencia completa del genoma del virus de hepatitis E
  - Mayor cantidad de RNA (Nanodrop)
- Nextseq 500
- Paired end + Single Read
- Dirigido a secuenciación de virus por selección con perlas Poli-T



# SECUENCIA COMPLETA DEL VIRUS DE HEPATITIS E

MXCD\_g3a\_B1 | \_2016

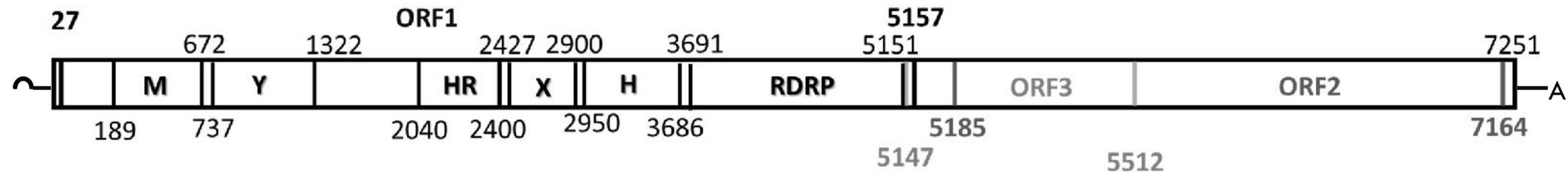
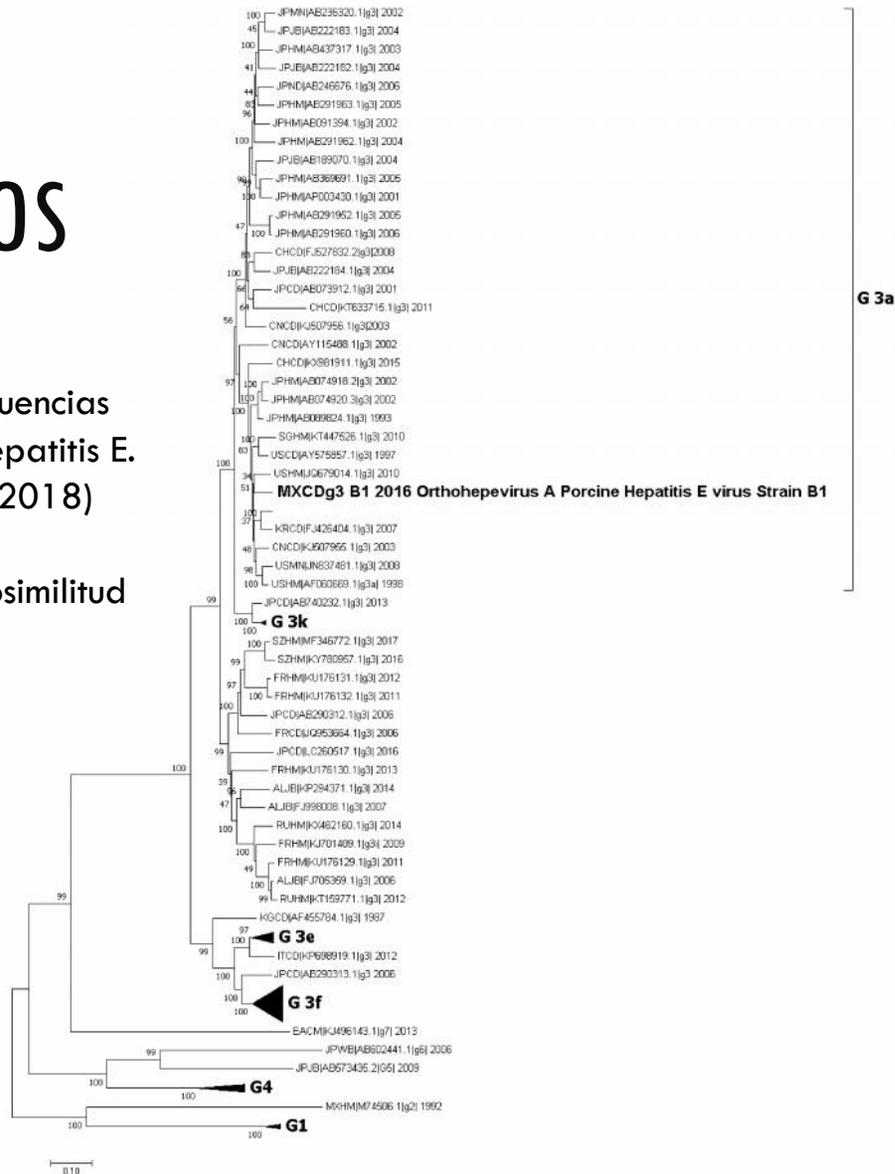


Figura 3. Representación gráfica de la secuencia completa MXCDg3\_B1c | \_2016. A. secuencia completa de 7,241 nucleótidos que consiste en 5'UTR de 27 nt (1-27), ORF 1 de 5,120 nt (27 a 5147), ORF 2 de 1,979 nt (5185 a 7164) ORF 3 de 365 nt (5147 a 5512) y un 3'UTR de 77 nt (7164-7251). B.

# RESULTADOS

- Árbol filogenético de secuencias completas del virus de hepatitis E.
- 102 secuencias (a enero 2018) parciales
- Método de Máxima Verosimilitud
- Modelo GTR
- 1000 bootstrap





# DISCUSIÓN

Aunque se ha confirmado que el VHE es una enfermedad zoonótica, se le ha dado poca importancia a la enfermedad en México.

- No hay diagnóstico disponibles para cerdos y humanos, y los casos clínicos pueden ser subestimados.

Este es el primer reporte de un genoma completo del VHE del genotipo 3 en México.

Se encontró solo una muestra positiva de bilis en rastro en rastro (1.56%).

- Nuevo León, México: 22.5% de resultados positivos en carnicerías.
- Brasil: 118 muestras, dos muestras de hígado (1,7%) y una muestra de bilis (0,84%) positivas.
- El factor de riesgo ocupacional para los trabajadores de rastro debe ser considerado bajo.

Pico de eliminación en semana 12 de edad.

- Muestras positivas en las diferentes etapas indican circulación constante en granja.

Mutaciones en cápside en sitios antigénicos.

- No es posible concluir si podría afectar la estructura 3-D

Cantú-Martínez, et al., 2013.  
Gardinali, et al. 2012.

# CONCLUSIONES

**Rastro: 1 bilis**  
**Granja: 2 pools (semana 12)**  
**Necropsia: 6 pools**



**1 secuencia completa**  
**2 secuencias parciales (>1 kb)**

## ■ Genotipo 3a- cerdos

- Riesgo para las personas que tienen contacto con cerdos
- Se deben implementar medidas de seguridad básicas para evitar la transmisión zoonótica
- Semana 12- pico de eliminación
  - Presente en otras etapas
- **Incrementar la atención que se da a la enfermedad como un problema de salud pública**
- Los análisis moleculares permiten el monitoreo de poblaciones de cerdos, cuerpos de agua y humanos
  - Implementar estrategias de control
  - Prevenir brotes

# PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Proyecto CONACYT: CB-221186

Diseño, implementación y optimización de una plataforma para la detección y caracterización molecular del genoma completo del virus de hepatitis E.



# GRACIAS



Dra. Rosa Elena Sarmiento Silva

Dra. María Elena Trujillo Ortega



Instituto de Biotecnología

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

- Dra. Blanca Itzel Taboada Ramírez
- Dr. Pavel Isa Haspra

- Dr. Francisco Arenas Huertero
- Dra. Tayde López Santaella



# GRACIAS



## Uso Responsable de Antibióticos en Animales para la Producción de Alimentos

Jesús López  
Elanco Animal Health

El uso de antimicrobianos en la medicina animal de alimentos se ha convertido en un importante tema político y científico, especialmente en relación con la contribución de la resistencia a los antimicrobianos de origen animal a la medicina humana, lo que lleva a llamados a nivel político para desarrollar planes de acción nacionales. A nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) han creado una lista de antibióticos críticamente importante para la medicina humana y la medicina veterinaria, respectivamente. El uso responsable de antibióticos en animales y humanos es esencial para preservar la viabilidad de los antibióticos para su uso en medicina. Para los animales, mantener su salud es importante para la producción de alimentos seguros para el consumo humano, para satisfacer las demandas de una población mundial en aumento que está buscando más proteína asequible de origen animal en sus dietas.

Se puede desarrollar una política sólida basada en las mejores ciencias y prácticas teniendo en cuenta las experiencias globales y las lecciones aprendidas. Las extensas experiencias y aprendizajes a nivel mundial, incluidos los de la Unión Europea (UE) y los Estados Unidos (EE. UU.), pueden contribuir al desarrollo de políticas y reglamentos basados en la ciencia. Los principios y la aplicación del análisis de riesgos, que incluye la evaluación de riesgos, la gestión de riesgos y la comunicación de riesgos, pueden servir para garantizar que los países incorporen las mejores prácticas en sus procesos regulatorios de animales en constante evolución. Los aprendizajes y las mejores prácticas a nivel mundial han demostrado que un enfoque estratégico para abordar la resistencia a los antimicrobianos es fundamental. El reconocimiento del estado actual y los objetivos deseados en un país y luego construir un proceso a través de leyes, regulaciones y prácticas, que es un puente del estado actual al estado deseado, es lo más importante para garantizar que las políticas y la ciencia puedan implementarse para un resultado exitoso. La acción política sin una ciencia razonada y prácticas realistas dará lugar a consecuencias no deseadas y un desperdicio de recursos limitados.

Los antibióticos normalmente están regulados como parte de un proceso de aprobación de medicamentos para animales de consumo. El proceso de aprobación regulatorio incluye la evaluación de la seguridad (humana, animal y ambiental), la calidad y la eficacia (el reclamo de la etiqueta con usos aprobados). La evaluación reguladora de seguridad humana para antibióticos históricamente consideró la seguridad toxicológica y microbiológica. Esta evaluación proporcionó el establecimiento de una ingesta diaria admisible (IDA) y límites máximos de residuos (LMR) para garantizar el uso seguro del producto. Más recientemente, la evaluación de seguridad está incorporando un análisis de riesgo específico para la resistencia a los antimicrobianos. Este proceso incluye evaluar el riesgo considerando la exposición, gestionar el riesgo a través de las instrucciones de uso de la etiqueta y comunicar el riesgo

para garantizar el uso responsable. El objetivo principal es reducir los patógenos transmitidos por los alimentos y la resistencia asociada con las bacterias, que pueden contribuir a la enfermedad humana no tratable. Es importante destacar que los residuos y la resistencia deben abordarse a través de leyes y reglamentos, sin embargo, cada uno requiere políticas y prácticas únicas para alcanzar los resultados deseados. Proporcionar los usos regulados de los productos antibióticos reduce los usos de productos antibióticos no regulados. La regulación con la debida aplicación contribuye a un suministro de alimentos inocuo a la vez que preserva la efectividad de los antibióticos para su uso en medicina humana y de animales de alimento.

Las reglamentaciones sobre antibióticos y el análisis de riesgo asociado deben considerar la indicación de uso y las categorías para el uso del compuesto. Los antibióticos se utilizan en animales para la producción de alimento ya sea para una indicación terapéutica que incluye el tratamiento de la enfermedad, el control y la prevención o para la promoción del crecimiento.

Las experiencias y lecciones globales pueden proporcionar ideas para las mejores prácticas en el desarrollo de políticas sólidas y regulaciones basadas en la ciencia. La Unión Europea y los Estados Unidos han buscado en las últimas dos décadas abordar la resistencia a los antimicrobianos mediante la evolución de sus leyes, reglamentos y prácticas de uso responsable. Cada uno avanzó diferentes enfoques a lo largo del tiempo y por lo tanto con diferentes experiencias y lecciones aprendidas. A nivel mundial, los antibióticos continúan siendo utilizados en todos los países en la producción de alimentos para animales; ningún país ha eliminado el uso de antibióticos.

La Unión Europea ha evolucionado sus regulaciones de antibióticos para proporcionar usos como inyectables, agua medicada y alimento medicado. El análisis de riesgo de resistencia a los antimicrobianos es una parte crítica del proceso de aprobación regulatorio. Los antibióticos pueden aprobarse para usos terapéuticos de tratamiento, control y prevención de enfermedades. El veterinario juega un papel importante como prescriptor de antibióticos.

En la UE, ha habido mucho debate sobre el uso de antibióticos en la medicina veterinaria para la promoción del crecimiento (PC). La UE prohibió el uso de PC desde el 1 de enero de 2006. Es importante destacar que la prohibición de la UE no fue una prohibición de moléculas sino una indicación de que, si una molécula tenía una indicación terapéutica y una indicación de PC, la indicación de PC estaba prohibida; sin embargo, la molécula permaneció en el mercado para indicaciones terapéuticas. El enfoque de la UE para prohibir el uso de PC ha tenido un impacto negativo denominado "consecuencias involuntarias" que ha resultado en una mayor incidencia de enteritis necrótica en aves de corral y disentería en cerdos, lo que ha resultado en el uso de mayores cantidades de antibióticos como indicaciones terapéuticas. Lo que genero el aumento en el uso terapéutico de antibióticos en Dinamarca después de que se aplicara la prohibición de PC en 2000. El aumento se debió principalmente al uso extensivo de tetraciclinas y penicilinas.

Este aumento en el uso de tetraciclinas y penicilina dio como resultado un aumento en los niveles de resistencia a estas clases de antibióticos en patógenos transmitidos por los alimentos, especialmente especies de Salmonella. Los datos de DanMap 2013 muestran claramente que después de la prohibición de PC, el nivel de resistencia a las tetraciclinas y la ampicilina aumentó y esto se reflejó en el uso de estas moléculas con fines terapéuticos.

Esta decisión en la UE se basó en el principio de precaución más que en datos científicos.

Los Estados Unidos han evolucionado sus reglamentaciones sobre antibióticos con análisis de riesgo de resistencia a los antimicrobianos como una parte fundamental del proceso de aprobación regulatorio. Los antibióticos pueden aprobarse para usos terapéuticos de tratamiento, control y prevención de enfermedades. El veterinario desempeña un papel importante como prescriptor de antibióticos, incluso para su uso en los piensos según una "directiva de alimentación veterinaria".

La FDA de EE. UU., En su guía 213 para la industria, dividió los antibióticos en tres clases. (1) uso humano solamente, es decir, clases de antibióticos solo usados en medicina humana, (2) solo uso de animales, es decir, clases de antibióticos solo usados en medicina animal y (3) uso de clase compartida, es decir, clases de antibióticos usados en medicina humana y animal. Se solicita a esta guía que las compañías farmacéuticas veterinarias eliminen voluntariamente las afirmaciones de la etiqueta PC de todos los antibióticos de clase compartida al tiempo que permiten que la indicación de PC permanezca para las clases de antibióticos que solo son de uso animal.

Desde el 1 de enero de 2017, los antimicrobianos veterinarios que son de clase compartida solo están permitidos para uso terapéutico (tratamiento, control y prevención) bajo prescripción veterinaria. Los antimicrobianos que solo son de origen animal en EE. UU., se pueden usar como productos terapéuticos bajo prescripciones veterinarias o se pueden seguir utilizando como PC y se pueden obtener sin receta médica.

Un país necesita determinar qué leyes, regulaciones y políticas de uso responsable son las mejores para ellos, considerando los aprendizajes de las experiencias globales. El enfoque debe comenzar por comprender completamente las políticas y prácticas actuales, los objetivos deseados y luego un enfoque práctico que relacione el estado actual con el estado deseado a lo largo del tiempo.

A medida que analicemos los problemas de la resistencia a los antibióticos, bajo el paraguas del uso responsable se podrían implementar varias acciones que incluyen pero no se limitan a (1) Monitoreo de la resistencia a antibióticos, (2) Monitoreo de uso de antibióticos, (3) Disponibilidad de antibióticos solo por prescripción, (4) Formularios y pautas para prescriptores (5) Consideración del canal de distribución y promoción de antibióticos recetados solamente.

El monitoreo de la resistencia a los antibióticos es la piedra angular de la evaluación de riesgos y una medida para medir las políticas de gestión de riesgos. Incrustados en una evaluación de riesgos microbiológicos para evaluar el potencial de bacterias resistentes a los antibióticos que contribuyen a las infecciones en humanos que no pueden ser tratadas con la misma clase de antibióticos que se usaron en los alimentos, los animales son los parámetros de liberación, exposición y consecuencia. Una vez que la evaluación de riesgos identifica un riesgo potencial como una mayor prevalencia de resistencia a los antibióticos y se implementa una gestión de riesgos adecuada, el monitoreo de la resistencia antimicrobiana debe continuar para determinar si la resistencia ha disminuido después de la intervención de gestión de riesgos indicando una acción apropiada, vs. niveles de resistencia que aumentan o permanecen estables, indicarían políticas de gestión de riesgos inapropiadas.

Las bacterias zoonóticas como Salmonella y Campylobacter pueden desarrollar resistencia a los antibióticos en el reservorio animal. Estas bacterias resistentes pueden transferirse a los

seres humanos a través de los alimentos y, posteriormente, pueden causar infecciones que pueden no responder adecuadamente al tratamiento con antibióticos. Las poblaciones bacterianas comensales del tracto intestinal de los animales pueden reflejar la presión de selección de antibióticos como resultado del uso de antibióticos a lo largo del tiempo. Los comensales de origen animal también pueden actuar como un depósito de genes de resistencia que pueden transferirse a patógenos u otros comensales en el intestino humano. Por esta razón, *Escherichia coli* y enterococos de origen animal se incluyen en muchos programas de control de resistencia como bacterias indicadoras representativas de la flora Gram-negativa y Gram-positiva, respectivamente, con el fin de proporcionar información sobre la prevalencia general de resistencia en animales sanos. Estas bacterias indicadoras zoonóticas y comensales se denominan bacterias transmitidas por los alimentos en el contexto de la discusión a continuación.

Los programas de monitoreo de la resistencia de las bacterias transmitidas por los alimentos normalmente recolectan cepas bacterianas de animales productores de alimentos, generalmente en el sacrificio, pero también en la granja y en las carnes al por menor, y luego determinan su susceptibilidad frente a un panel de antibióticos relevantes para la medicina humana. El monitoreo de la susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias transmitidas por los alimentos se realiza tanto a nivel nacional como internacional. Ejemplos de sistemas de monitoreo a nivel nacional son CIPARS (Canadá), DANMAP (Dinamarca), JVARM (Japón), MARAN (Países Bajos), NARMS (EE. UU.), NORM-VET (Noruega) y SVARM (Suecia). Hay algunos programas internacionales armonizados. A finales de los años noventa, el programa europeo de vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana en animales (EASSA) se inició como una iniciativa compartida de la industria farmacéutica veterinaria, mientras que hace más de una década la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) estableció un programa de control de la resistencia antimicrobiana a patógenos transmitidos por animales productores de alimentos y sus alimentos. Este último control integrado de la UE ahora ha reemplazado a parte de los programas nacionales en Europa. Por lo tanto, actualmente existen dos programas de vigilancia internacionales europeos de la resistencia a los antimicrobianos de las bacterias transmitidas por los alimentos en los animales. Además, varios estudios de monitoreo únicos continúan publicándose periódicamente.

El monitoreo de la resistencia a los antimicrobianos tiene actualmente un alto perfil y está en muchas agendas políticas internacionales. De mayor preocupación es la aparición y propagación de la resistencia a los antimicrobianos en las bacterias, lo que impide el tratamiento adecuado de las infecciones bacterianas en los seres humanos. El potencial de transmisión de bacterias resistentes a los antimicrobianos o sus determinantes de resistencia de los animales productores de alimentos a los seres humanos ha sido un problema de salud pública durante varias décadas. Cabe señalar que la mayor parte de la resistencia que se desarrolla en los agentes patógenos que representan un riesgo grave para la salud humana es el resultado del uso en humano, en lugar del uso veterinario de antimicrobianos. Las bacterias transmitidas por los alimentos no causan las infecciones más graves o más frecuentes como las bacterias resistentes en humanos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la resistencia a los antimicrobianos como una amenaza urgente para la salud mundial y ha identificado varias estrategias para disminuir la amenaza. El Plan de acción mundial de la OMS incluye mejoras en la calidad del control de la resistencia y exige sistemas de vigilancia armonizados y estandarizados. Los programas de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos, tanto en medicina humana como veterinaria, por lo tanto, siguen siendo

esenciales para seguir la evolución de la resistencia a los antibióticos. Muchas organizaciones, incluidas la OMS y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), hacen hincapié en la importancia de sistemas fiables y armonizados de recopilación y control de datos. De hecho, una metodología apropiada y armonizada de susceptibilidad a los antibióticos y la interpretación de los datos son cruciales para permitir comparaciones objetivas y evaluaciones de riesgos dentro de los países y entre ellos. Existen varios sistemas nacionales de vigilancia de susceptibilidad a antibióticos veterinarios que se están llevando a cabo actualmente y es importante recalcar desde el principio que todos los sistemas de vigilancia revisados tienen un gran mérito, especialmente cuando se consideran tendencias de resistencia dentro de los países en los que se ha iniciado la vigilancia. Sin embargo, a nivel internacional ha habido poco éxito en el intento de armonizar los enfoques respectivos, lo que hace que las comparaciones horizontales entre países sean difíciles, sino imposibles.



# LA IMPORTANCIA DE LO IMPORTANTE

## *(Coaching Didáctico)*

**Por: MVZ Jorge Perea Coach**

Tema Charla AMVEC La Piedad:

1. ¿Quién soy yo? (Breve reseña de mi trayectoria)
2. ¿Qué es Coaching Didáctico? Mostrar caminos y rutas diferentes, al realizar diagnósticos de áreas de oportunidad, crear soluciones desde otro punto de vista, y generar un modelo de pensamiento diferente, basado en anticipación.
3. ¿Para qué sirve el Coaching Didáctico? Para poner metas en el horizonte.
4. DINAMICA DE GRUPO
5. Charla
6. Reflexión.

### 4. DINAMICA DE GRUPO

Preparación (Papel y lápiz.)

Esto va a ser un examen, preguntas rápidas por tiempo. Sean breves.

Cuando Terminen, por favor levanten la mano para que yo sepa que ya terminaron,

#### **PREGUNTAS:**

1. Escribe tu nombre completo. (Tienes 10 Segundos)
2. Con tu otra mano, vuelve a escribir tu nombre. (Tienes 8 segundos)
3. (5 segundos) Escribe 5 animales
4. (5 segundos) Escribe 5 colores
5. Dibuja una casa (5 segundos)
6. Haz un avión (5 segundos)
7. Ahora un caballo

#### **REFLEXION DE CADA UNA DE LAS PREGUNTAS.**

1. ¿Para qué sirve el nombre en un examen? Para hacerlo tuyo, son tus aciertos y tus errores. Es Personal.
2. Usar tu otra mano te saca de tu zona de confort. NO eres bueno en el primer intento. ¿Por qué les pides a tus trabajadores ser bueno en el primer intento? No te sientes cómodo fuera de tu zona de confort, pero puedes hacer las cosas, atrévete, y trata de sentirte cómodo fuera de tu zona de confort.
3. ¿Quien escribió cerdo? ¿Perro? ¿Gato? ¿vaca? ¿Caballo? ¿Por qué lo hicieron? Lo tienen programado, es su memoria. Es su escritorio, su Mapa mental favorito.



4. Colores, Rojo, Azul, Verde, ¿Cuál es tu color favorito?, ¿Quién escribió Beige? ¿Menta? ¿Fucsia? No están comúnmente en los mapas mentales. En Mujeres es diferente.
5. ¿Quién hizo una casa de kínder? ¿Viven en una casa así? Mapas mentales...nuevamente Paradigmas.
6. ¿Cuál fue la instrucción? **Haz** un avión. Te saca de los límites.
7. **AHORA** un Caballo. Te abre las posibilidades

¿Alguien sabe que es un paradigma?

Del griego Para-digma es un Patrón o Modelo

Un PARADIGMA, es Un Mapa mental sobre algo, conocido, bueno o malo.

El Paradigma es algo bueno cuando te conduce automáticamente hacia una respuesta rápida, que te permite crecer, y malo cuando no te lleva a ningún lado y te ata.

Ejemplo de Paradigma Malo: Los Changos y las bananas.

Ejemplo de un paradigma bueno: El Chango y el hueso de aguacate.

La Importancia de esta dinámica, es Primero: enseñarnos que es un paradigma, Segundo: atrevernos a salir de nuestra área de confort, y Tercero: no hay paradigmas solamente malos, también hay buenos.

Ahora cuál es tu Paradigma sobre: ¿QUE ES LO MAS IMPORTANTE?

## 5. Charla:

**¿Pregunta, para que trabajamos?**

**Debemos trabajar para algo importante. ¿Qué es lo más importante para ti el día de hoy?**

No me digan ahora, solo piensen, que no es lo mismo para el contador, que para el de mantenimiento, que para el de la planta de alimentos o para el de ventas. Lo importante aquí, es que cada quien en su área de competencia debe hacer las cosas bien, trabajar al máximo, y dar su mejor resultado.

¿Para Dios? ¿Para La Familia (sustento, calidad de vida)? ¿Para La empresa? ¿Para El cliente final? Historia de los tres albañiles... hacen lo mismo, con una visión diferente...

Todo el mundo cree que su trabajo es el más importante, si no pregúntenle al de Ventas, al de contabilidad, al de mantenimiento, o al de la planta de alimentos, al de compras, o al de sistemas. Todos pelean entre sí, cada quien, en su trinchera, somos enemigos internos, disparamos fuego amigo.

Nos ponemos piedras, y hablamos mal unos de otros, pero no es raro, porque hasta en las familias se da. Chiste de los órganos, ¿quién es más importante?

Necesitamos que nos caiga el veinte, y que aceptemos que no somos los principales protagonistas de la película. Somos parte del elenco, nuestro papel es importante, pero el mundo gira y seguirá girando aun sin nosotros.



Ustedes son los encargados, o responsables. Encargado es igual a Responsable. Es responsable de todo, pero no tiene autoridad para hacer o cambiar nada. Debemos cambiar su Nombramiento a Gerentes. Gerente de Producción o Gerente de Granja. Gerenciar es hacer labor administrativa. Administrar los recursos que se nos confieren para que las cosas se den. Eso es algo importante: Trabajar para que las cosas se den.

PERSONAS. Si trabajas con las personas, ellas harán el trabajo por ti. Las cuatro patas de la mesa NECESITAN UN PISO DONDE SUSTENTARSE. Las personas son la base donde se soportan las patas, y estas a su vez sustentan a la producción porcina.

GENETICA, NUTRICION, MANEJO, SANIDAD...

### **ESTAS DEBEN SER LAS COSAS IMPORTANTES.**

#### **a.) RECURSO HUMANO es el piso sobre el que se sustentan las 4 patas.**

Sin la gente, podrás tener las mejores instalaciones, el mejor alimento, la mejor genética, el mejor equipo, pero sin ellos no eres nada.

Como dice Maqueda, las 4 patas son importantes. RH es la plataforma, no es una pata, es donde se soportan las otras patas, es el suelo para que todo eso no caiga.

Los clientes son la mesa, no los cerdos, ni la producción.

En mi experiencia he visto como TODO depende del personal. "TODO"

¿Quién es responsable de hacer que las cosas pasen? ¿Quién es responsable de hacer que se hagan bien, y que sean efectivas, eficaces y eficientes?

*Tu eres el LIDER de esa gente, y es tu responsabilidad ver que se hagan.*

**Tener a la mejor gente, y crear al mejor equipo, te asegura los resultados.**

Capacítalos para que tengan herramientas para poder irse, y MOTIVALOS, PARA QUE NO QUIERAN HACERLO.

b.) **TIEMPO:** La gestión del tiempo es quizá el recurso que más importa desde siempre, y el que menos dedicamos tiempo. Ahorrar tiempo no significa usarlo eficientemente. El tiempo no se ahorra, se usa, si no lo usas, se pasa, y no hay manera de detenerlo. Un sueño no es nada sin una meta, una meta no es nada sin un plan, un plan no es nada sin la acción, la acción te llevara al Logro, y el logro es la sucesión de momentos que te harán sentirte exitoso.

c.) **METAS** Las metas son lo que nos mueve a trabajar. Debe ser la motivación diaria. Las metas deben ser diarias' semanales, mensuales y anuales. Deben ser SMART. ¿Cuáles metas debes lograr? ¿Tus Metas o las de tu jefe? O ¿las de la empresa? Puedes talar en el bosque equivocado. Asegúrate de que se logren primero las metas del líder, las de la empresa, y luego las tuyas y las de tu equipo. Deben ser metas encadenadas. La gente debe tener metas para avanzar hacia el horizonte.



Debemos aceptar que no tenemos la visión del empresario, no tenemos la visión del Director General, ellos necesitan nuestra ayuda, nuestra visión, pero debemos seguir su intuición. Las metas se hicieron para cumplirse, para lograrse, CONSISTENTEMENTE.

- d.) **CRECIMIENTO PERSONAL**, Debemos ser un poco egoístas en este sentido, puesto que, si no vemos por nosotros, si no nos preparamos a diario, si no agregamos valor en nosotros mismos, no podremos hacerlo con nadie más, y vamos a frenar nuestro entorno, comenzando por nuestra familia, y nuestros trabajadores. Para generar valor, debemos agregarnos valor a nosotros mismos. Capacitarnos, aprender, crecer profesionalmente y como personas.
- e.) **GENERAR VALOR**. Debe ser una preocupación diaria, sobre lo que estamos haciendo para agregar valor a nuestro entorno, a nuestro proceso, a nuestro producto, a nuestra gente, a nuestra familia, a nuestros clientes, a nuestra ciudad, a nuestro país, a este mundo. Que estamos aportando para hacer de este mundo un mundo mejor para nuestros hijos. El generar valor debe ser una consecuencia de mejorarnos a nosotros mismos, de mejorar nuestra calidad de vida, nuestro entorno,

No se requiere hacer algo extraordinario.....

.....Se requiere hacer EXTRAORDINARIAMENTE BIEN LAS COSAS QUE HACEMOS.

#### REFLEXIONES.

Lo importante es diferente para cada quien. Y cambia constantemente, puesto que debemos reajustar y redefinir nuestras prioridades con frecuencia.

Es **IMPORTANTE** comenzar siempre por lo mas importante, y no olvidar establecer nuestras prioridades con frecuencia.

La labor del coach de producción es ayudar a las personas, a ver las cosas de una manera diferente, a resaltar las cosas importantes, a tener ese crecimiento, en lo profesional, y los resultados, productivos y económicos, en desarrollar al personal, en hacer más líderes, y en dejar huella.

**HACER CRECER TU NEGOCIO ES MI NEGOCIO.**

Gracias.



# XVII Congreso AMVEC La Piedad



**Importancia de la Metionina en el Metabolismo,  
el Estrés Oxidativo, Desarrollo de la Inmunidad  
y la Incidencia de Patologías en los Cerdos**

**Prof. Yordan Martínez Aguilar PhD.**

Profesor e investigador  
Email: [ymacepa@hotmail.com](mailto:ymacepa@hotmail.com)

# Objetivo

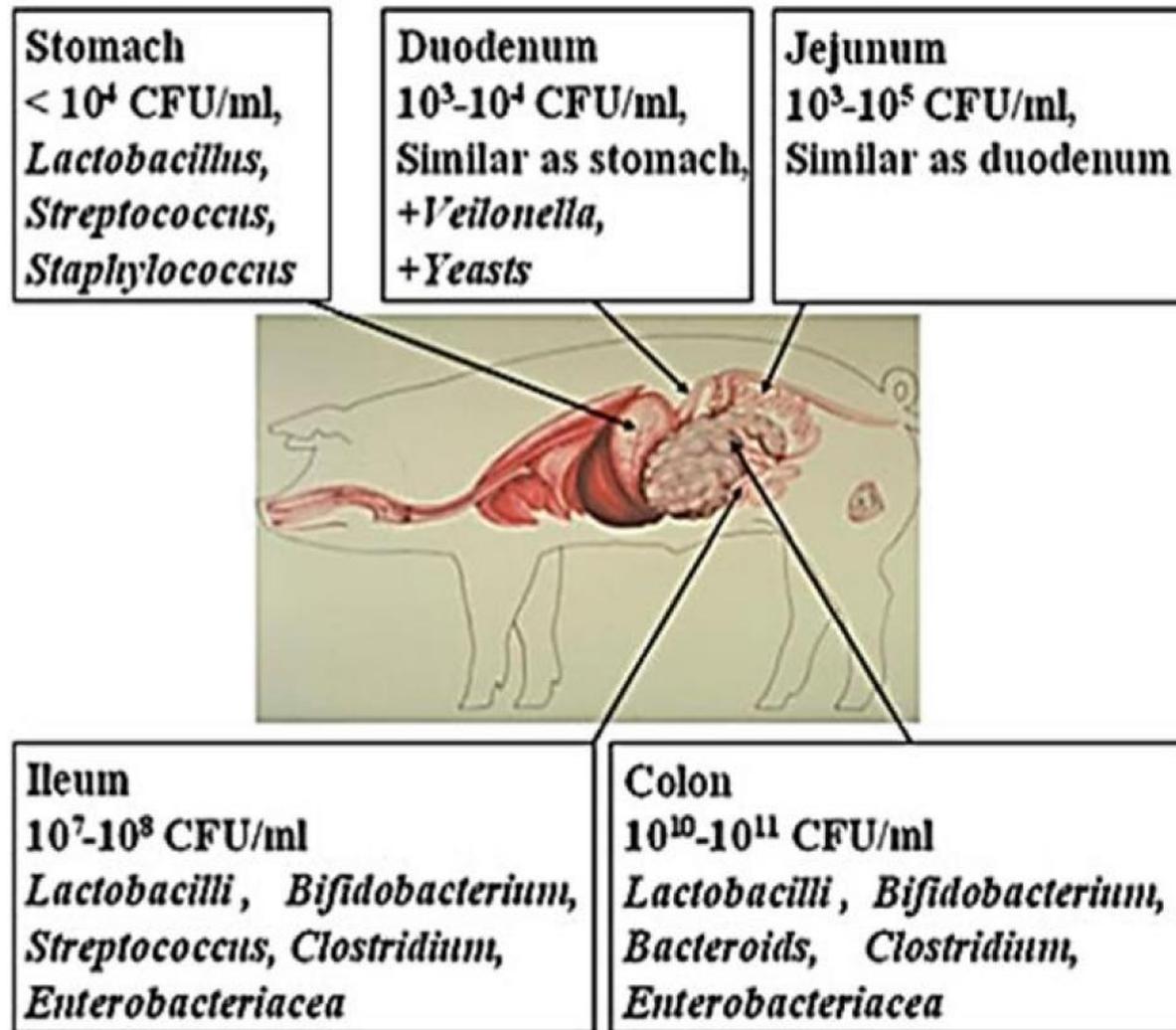
Evaluar (con enfoque científico y práctico) el efecto de la metionina en el metabolismo, el estrés oxidativo, desarrollo de la inmunidad y la incidencia de patologías en los cerdos.

# Crecimiento animal

El crecimiento animal está mediado por una competición compleja entre los procesos metabólicos y catabólicos, donde interviene diversas reacciones fisiológicas y bioquímicas como la utilización de la glucosa y **aminoácidos**, **proteína intracelular** y deposición de lípidos, así como las regulaciones hormonales y otros factores intrínsecos y extrínsecos (Jobgen et al., 2006; Kong et al., 2007a,b).



Fig 1. Producción Animal Intensiva



**Fig. 6.1** Bacterial cells density and major bacterial species for digesta in the different site along the digestive tract of pig

# Digestión de las proteínas

- Se inicia en el estómago por acción de la pepsina y el jugo gástrico que atacan las largas cadenas.
- El contenido estomacal pasa al ID, donde se mezcla con los jugos intestinales que continúan con la degradación de las proteínas y los pépticos, liberando aminoácidos, los que son absorbidos posteriormente.
- En el ID se realiza la mayor absorción, entre el 70 y el 78 % del total del nitrógeno digerido.
- En el IG, la absorción proteica se realiza hasta la mitad proximal del colon.

# Factores que afectan la digestión de las proteínas

La formulación adecuada de los aminoácidos, sobre todo los esenciales.

La hidrólisis del alimento proteico utilizado.

Cantidad y naturaleza de la proteína aportada.

Salud Intestinal.

Edad y Raza o estirpe.

# Biodisponibilidad de las proteínas

Desnaturalización de las proteínas.

Glucosilación o glicación no enzimática de proteínas.

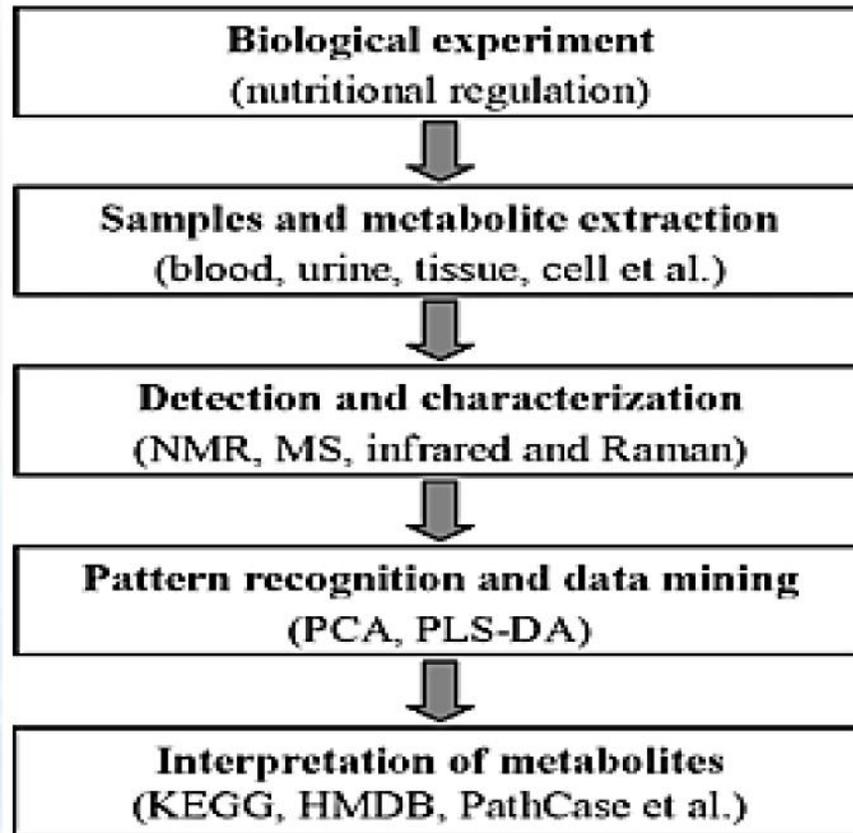
# Proteína ideal

La proteína ideal se define como el equilibrio exacto de AAs esenciales y no esenciales, capaces de proveer, sin deficiencia o excesos, las necesidades absolutas de todos los AAs exigidos para mantenimiento y para la proteína corporal.

Emmert & Baker (1997)

# Metabolómica

Es un estudio científico completo que combina los perfiles metabólicos y los análisis de datos multivariados para facilitar el estudio sistemático de metabolitos en las muestras biológicas.



**Figure 1.** Common workflow of metabolomics analysis in amino acid nutrition. Abbreviations used: HMDB, The Human Metabolome Database; KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes; MS, mass spectrometry; PCA, principle component analysis; PLS-DA, partial least square discriminant analysis.

**Table 7.2** The 20 standard amino acids of proteins

<i>Nonpolar amino acids</i>	<i>Polar-uncharged amino acids</i>
Gly	Ser
Ala	Cys
Pro	Thr
Val	Asn
Leu	Gln
Ile	Tyr
Met	
Phe	
Trp	
<i>Positively charged amino acids</i>	<i>Negatively charged amino acids</i>
Lys	Asp
Arg	Glu
His	

**Table 11.1** Indispensable, dispensable, and conditionally indispensable amino acids in the human diet (Laidlaw and Kopple 1987)

Indispensable	Dispensable	Conditionally indispensable <sup>a</sup>	Precursors of conditionally indispensable
Histidine <sup>b</sup>	Alanine	Arginine	Glutamine/glutamate, aspartate
Isoleucine	Aspartic acid	Cysteine	Methionine, serine
Leucine	Asparagine	Glutamine	Glutamic acid/ammonia
Lysine	Glutamic acid	Glycine	Serine, choline
Methionine	Serine	Proline	Glutamate
Phenylalanine		Tyrosine	Phenylalanine
Threonine			
Tryptophan			
Valine			

<sup>a</sup>Conditionally indispensable is defined as requiring a dietary source when endogenous synthesis cannot meet metabolic need

<sup>b</sup>Although histidine is considered indispensable, unlike the other eight indispensable amino acids, it does not fulfill the criteria used in this report of reducing protein deposition and inducing negative nitrogen balance promptly upon removal from the diet

# ¿Qué influye en los requerimientos?

Calidad y  
cantidad  
de los  
alimentos

Sexo

Etapa  
productiva  
y fin  
productivo

Estado de  
salud

Forma de  
presentación y  
frecuencia

Tipo de  
raza o  
estirpe

Características  
medio-  
ambientales

# Dieta y Requerimientos nutricionales

**Table 1.** Compositions and nutrient levels in basal diets (as-fed basis)

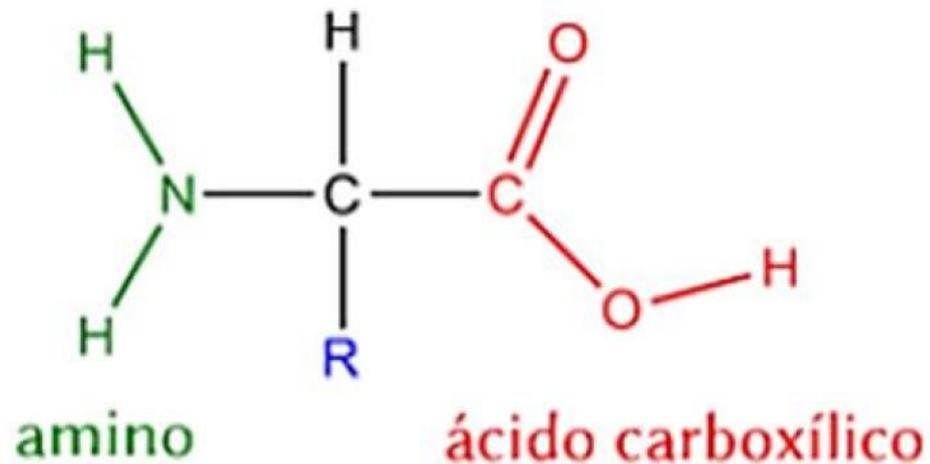
Ingredients	Content (%)	Total composition	
Yellow corn	74.87	DM, %	89.70
Soybean meal	21.0	ME, Mcal/kg	3.38
L-Lys HCL	0.23	CP, %	19.40
DL-Met	0.07	SID Lys, <sup>2</sup> %	0.90
L- Thr	0.10	SID Met & Cys, %	0.56
L-Trp	0.04	SID Trp, %	0.20
L-Ala <sup>1</sup>	0.51	SID Thr, %	0.61
Poultry fat	1.00	SID Val, %	0.67
Vitamin premix <sup>2</sup>	0.03	SID Ile, %	0.59
Mineral premix <sup>3</sup>	0.15	SID Phe, %	0.71
Monocalcium phosphate	0.70	Ca, %	0.68
Ground limestone	1.00	Total P, %	0.49
Salt	0.30	Available P, %	0.21

<sup>1</sup>L-Ala was provided as an isonitrogenous control for L-Tryptophan. <sup>2</sup> Standardized ileal digestible.

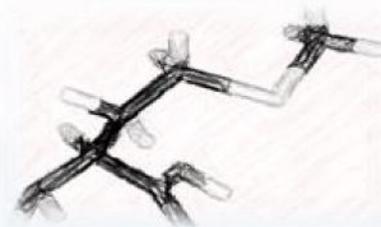
Liu y Martínez (2016). Journal of Animal Science. 94:75-78.

# Aminoácidos proteicos

Un **aminoácido** es una molécula orgánica con un grupo amino ( $-\text{NH}_2$ ) y un grupo carboxilo ( $-\text{COOH}$ ), unidos mediante un enlace peptídico. Los aminoácidos más frecuentes y de mayor interés son aquellos que forman parte de las proteínas.



# Efecto de la metionina en el metabolismo de los cerdos



El 20% de la Met dietética es usado en el TGI y el requerimiento parenteral es 69% de la enteral en cerdos jóvenes.

Precursor de la succinil-CoA, homocisteína, cisteína, creatina y carnitina.

La cisteína producida se utiliza en la traducción de proteínas y en la síntesis de glutatión y taurina.

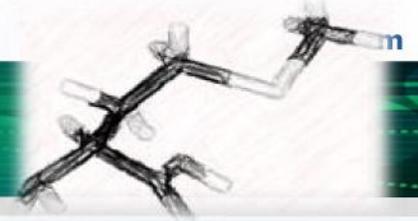
Participa en la biosíntesis de Met S-adenosil que influye en la síntesis de poliamina, creatina y metabolismo de la fosfatidilcolina.

Precursor de las reacciones de metilación celular, participa en el reciclaje del sulfuro y se convierte en sulfóxido L-metionina (MetO).

Una deficiencia atrofia el intestino delgado y suprime el crecimiento epitelial y el contenido de glutatión.

El consumo excesivo de Met deprime el crecimiento mediante una disminución de la transsulfuración y aumento de la transmetilación

# Efecto de la metionina en el estrés oxidativo de los cerdos



Es fácilmente catalizado por los hepatocitos para la síntesis directa de glutatión, un antioxidante de bajo peso molecular

La restricción de metionina (RM) estimula la producción de glutatión y reduce el estrés oxidativo

Un exceso de Met cambia la actividad oxidativa mediante la pentosa vía de fosfato y aumenta la tolerancia celular al agente oxidante de tío-agente oxidante diamida

La RM reduce el estrés oxidativo, pero no cambia la actividad de sus enzimas antioxidantes

La Met quela el plomo y lo elimina de los tejidos

La RM provoca una transulfuración que conduce al catabolismo de la Met y a la remetilación, a través de la homocisteína.

# Efecto de la metionina en la inmunidad de los cerdos



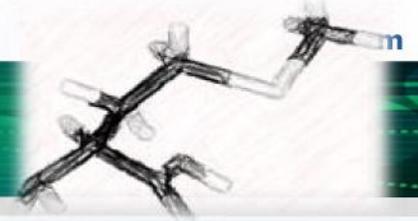
Influye directamente en el crecimiento y la respuesta inmunitaria en cerdos destetados

Efecto sinérgico de la Met con colina en la producción de anticuerpos (IgG)

La deficiencia de Met disminuye el peso relativo y actividad de los órganos linfoides

Los aportes de Met desde 322 a 580 mg/d mejora los niveles séricos de IgG

# Efecto de la metionina en las patologías de los cerdos



La exposición crónica a Met induce el estrés oxidativo y promueve cambios histológicos en el hígado

El exceso de Met puede inducir daño vascular y renal con hipertrofia tubular

Las altas concentraciones de Met y MetO en el plasma causan un aumento progresivo en la tasa de filtración glomerular, lo que afecta la función renal

Una alta concentración sérica de Met se asocia con problemas coronarios, enfermedades oclusivas cerebrovasculares y arteriales

RM aumenta la lipogénesis de novo, la lipólisis y la oxidación de ácidos grasos

Las células cancerosas son alteradas por el metabolismo Met y la transmetilación, RM reemplazado por homocisteína e inhibe el crecimiento de las células cancerosa

Los niveles excesivamente bajos de Met y sus productos metabólicos disminuyen la función celular en múltiples órganos

# Resumen

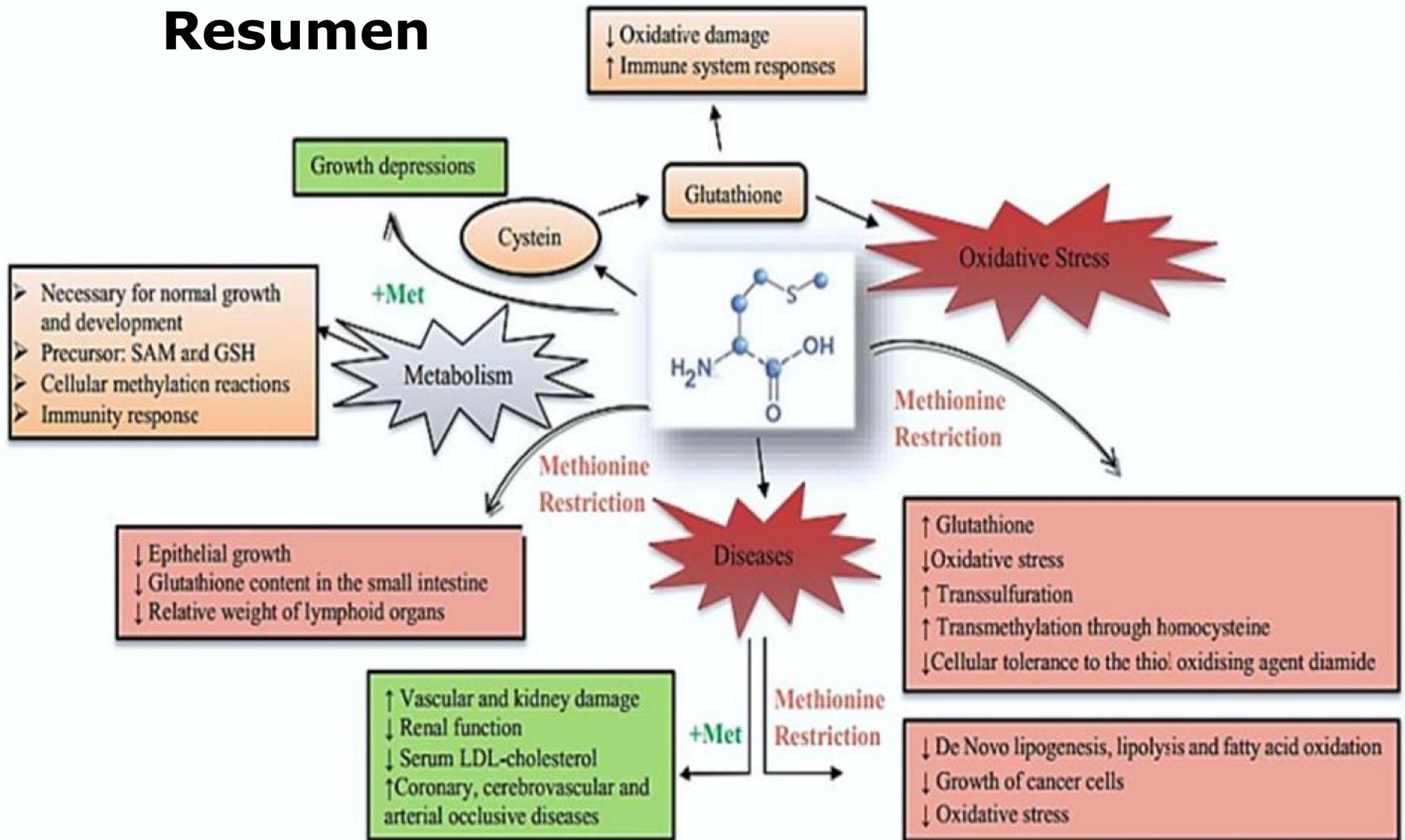


Figure 1. Main effects of the biological activity of the Met and Methionine Restriction on metabolism, oxidative stress and diseases

Martínez et al. (2017). The role of methionine on metabolism, oxidative stress and diseases: A review. Amino acids.

# Conclusión

La metionina participan en muchas funciones biológicas de los cerdos aparentemente sanos y enfermos; un correcto uso podrá maximizar en el comportamiento productivo de los animales en producción intensiva y erradicar o apaliar los problemas de salud.



**Muchas Gracias !**