



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria

**Efecto del ácido retinoico sobre la expresión del
receptor CCR9 y la integrina alfa 4 beta 7 en leucocitos
sanguíneos de alpacas (*Vicugna pacos*)**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Jorge Eduardo HERMOZA CAZORLA

ASESOR

Alberto MANCHEGO SAYÁN

Lima, Perú

2016

RESUMEN

Las células T efectoras (CD4⁺ y CD8⁺) y de memoria pueden migrar a la mayoría de los tejidos extralinfoides en el cuerpo. Sin embargo, la migración a la mucosa intestinal requiere la expresión de receptores de alojamiento (*homing*), muy específicos en las células T, la integrina $\alpha 4\beta 7$ y el receptor de quimiocina CCR9. Está demostrado que los linfocitos circulantes a nivel sanguíneo ya sean linfocitos CD4⁺ o CD8⁺ carecen de receptores CCR9 y $\alpha 4\beta 7$, sin embargo al alcanzar la mucosa intestinal, se expresan este tipo de receptores. La mayoría de los estudios realizados con linfocitos de sangre periférica de humanos, y estudios *in vivo* en ratones muestran al ácido retinoico, un metabolito de la vitamina A que se sintetiza específicamente por las células dendríticas (CD) asociados al intestino, como un factor estimulador del sistema inmune. El objetivo del estudio fue determinar el efecto del ácido retinoico sobre la expresión de los receptores CCR9 y la integrina $\alpha 4\beta 7$ en linfocitos sanguíneos de alpacas (*Vicugna pacos*). Se realizó un análisis *in vitro* de muestra de sangre circulante de alpaca. Los leucocitos obtenidos se colocaron en placas de cultivo celular en medio esencial mínimo (MEM) suplementado e inoculados con ácido retinoico a concentraciones de 10, 50 y 100 $\mu\text{g/ml}$ disuelto en DMSO. Se empleó un control a base de suero fisiológico. Las placas de cultivo celular fueron incubadas por 12, 24 y 48 horas a 37°C con CO₂ al 5%. Se realizó las PCR en tiempo real de los ARNm del receptor CCR9 y la integrina $\alpha 4\beta 7$ y la cuantificación relativa con el método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$. Para CCR9, las máximas expresiones se dieron a las 48 horas para las concentraciones de 10 y 100 $\mu\text{g/ml}$ de ácido retinoico y DMSO, y a las 24 horas para la concentración de 50 $\mu\text{g/ml}$. El control presentó expresiones mucho más elevadas en comparación con las dosis de ácido retinoico y DMSO. No hubo expresión para la integrina $\alpha 4\beta 7$.

Palabras clave: CCR9, alfa4beta7, ácido retinoico, homing, intestino, alpacas

ABSTRACT

Effector T (CD4 + and CD8 +) and memory cells can migrate to most extralinfoides tissues in the body. However, migration to intestinal mucosal requires expression of the homing T cells receptors $\alpha 4\beta 7$ integrin and CCR9. It is shown that either CD4+ or CD8+ circulating blood lymphocytes lack of CCR9 and $\alpha 4\beta 7$ lymphocyte receptors. However upon reaching the intestinal mucosa such receptors are expressed. Most studies with human peripheral blood lymphocytes and *in vivo* studies in mice show the retinoic acid as a stimulatory factor of the immune system. Retinoic acid is vitamin A metabolite specifically synthesized by dendritic cells (DC) associated with the gut. The aim of the study was to determine the effect of retinoic acid on the expression of receptors CCR9 and $\alpha 4\beta 7$ integrin in blood lymphocytes of alpacas (*Vicugna pacos*). Leukocytes obtained were plated in cell culture minimal essential medium (MEM) supplemented with retinoic inoculated at concentrations of 10, 50 and 100 .mug / ml acid solved with DMSO. Based control saline was used. The cell culture plates were incubated for 12, 24 and 48 hours at 37°C with 5% CO₂. Real time PCR was performed and the relative quantification method $2^{-\Delta\Delta C_t}$. In CCR9, the highest expressions were given at 48 hours at the concentrations of 10 and 100 ug/ml of DMSO, meanwhile in the retinoic acid was at 24 hours at the concentration of 50 ug/ml. Control expressions were higher in comparison to the doses of retinoic acid and DMSO. There was no $\alpha 4\beta 7$ integrin expression.

Keywords: CCR9, alfa4beta7, retinoica acid, homing, intestine, alpaca