



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Medicina Veterinaria

Unidad de Posgrado

**Efecto de antígenos clostridiales con ácido retinoico  
sobre la expresión de citoquinas de la respuesta  
inmune humoral y celular de la mucosa intestinal de  
crías de alpacas (*Vicugna pacos*)**

**TESIS**

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias  
Veterinarias con Mención en Salud Animal

**AUTOR**

Juan Anderson MORE BAYONA

**ASESOR**

Alberto MANCHEGO SAYÁN

Lima, Perú

2013

## RESUMEN

Se determinó los niveles de expresión de las principales citoquinas de la respuesta inmune humoral y celular, realizando un análisis in vitro, que consistió en la inoculación de la ácido retinoico y antígenos de *Clostridium perfringens*, sobre leucocitos de alpaca; y un análisis in vivo, a través de la administración de la combinación a crías de alpacas. En el análisis in vitro, se realizaron evaluaciones a diferentes concentraciones de antígenos clostridiales y ácido retinoico. Para el estudio in vivo se administró el inóculo a una concentración de 0.25mg/Kg de antígeno clostridial (AgCP) y 0.067mM/Kg de ácido retinoico (ATRA) a doble dosis, a alpacas agrupadas en grupo 1, individuos de 1 día; y grupo 2, individuos de 7-14 días, considerando además animales que no recibieron el tratamiento. Los leucocitos inoculados y muestras de intestino de los individuos tratados y sus controles no tratados fueron procesados y analizados mediante cuantificación relativa por RT-PCR tiempo real. En las pruebas in vitro, se encontró un incremento creciente de la expresión de Interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e Interleucina 2 (IL-2) hasta la concentración de 100pg AgCP y 25mUI ATRA. No encontrándose expresión a 10pg AgCP y 250mUI ATRA. Para factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) la expresión fue creciente hasta 10 pg de AgCP y 250mUI ATRA. Para la expresión de interleucina 10 (IL-10), ésta fue máxima a la concentración de 10ng de AgCP y 2.5 mUI de ATRA. El análisis in vivo, mostró una mayor expresión de IFN-gamma ( $p < 0.013$ ), IL-2 ( $p < 0.027$ ) y TNF-alfa ( $p < 0.007$ ), diferencia soportada por los individuos del grupo 2. Además, no se observó diferencia significativa para IL-4 e IL-10. Los resultados muestran efectividad en la estimulación de la respuesta inmune celular más no humoral. Se espera mejorar la respuesta inmune humoral, y así el tratamiento puede convertirse en un futuro cercano, en una alternativa para el control de la enterotoxemia en alpacas.

Palabras clave: *Clostridium perfringens*, ácido retinoico, inmunidad celular, inmunidad humoral, alpaca

## ABSTRACT

It was determined the levels of expression in the main cytokines of humoral and cellular immune response, it was done through in vitro analysis, consisting in inoculation of retinoic acid and *Clostridium perfringens* antigens, on leukocytes of alpaca; and in vivo analysis, through administration of combination to young alpacas. The analysis in vitro was done by evaluation at different concentrations of clostridium antigens and retinoic acid. In in vivo analysis, it was administered 0.25mg/Kg of clostridial antigens (AgCP) and 0.067mM/Kg of retinoic acid (ATRA) in double dose to grouped alpacas in 1 day animals (group 1) and 7-14 days animals (group 2). The inoculated leukocytes and intestine samples of treated animals were processed and analyzed through relative quantification by real time RT-PCR. In vitro assays reveal an increased growing of gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) and interleukin 2 (IL-2) expressions to 100pg AgCP and 25mUI ATRA concentration. It was not found expression at 10pg AgCP and 250mUI ATRA. For tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) the expression was growing to 10pg de AgCP and 250mUI ATRA. Whilst for interleukin 10 the expression was maximal at 10ng AgCP and 2.5mUI ATRA concentration. In vivo assays show an increased expression for IFN- $\gamma$  ( $p < 0.013$ ), IL-2 ( $p < 0.027$ ) and TNF- $\alpha$  ( $p < 0.007$ ), and finding that this difference was supported by group 2 animals, in comparison with no treated animals. Furthermore, there was not difference for IL-4 and IL-10 with no treated animals. The results show effectiveness in cellular immune response stimulation but not for humoral response. We hope to improve the humoral immune response and convert this treatment in a way to control the enterotoxaemia in Young alpacas.

**keywords:** *Clostridium perfringens*, retinoic acid, cellular immunity, humoral immunity, alpaca