



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

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

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del título de Medica Veterinaria y
Zootecnista

Autora:

Vásquez Salazar Kerly Daniela

Tutora:

Cueva Salazar Nancy Margoth Dra. Mg.

LATACUNGA – ECUADOR

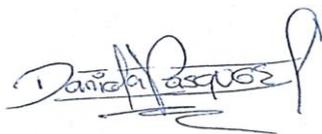
Marzo 2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Kerly Daniela Vásquez Salazar, con cédula de ciudadanía No. 1723827604 declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos Nematodos”, siendo la Doctora Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar, Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

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

Latacunga, 8 de Marzo del 2021



Kerly Daniela Vásquez Salazar
Estudiante
C.I: 1723827604



Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar
Docente tutor
C.I: 0501616353

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **VÁSQUEZ SALAZAR KERLY DANIELA** identificada con cédula de ciudadanía **1723827604**, de estado civil soltera a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el PhD. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector Encargado y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado **Proyecto de Investigación**, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad, según las características que a continuación se detallan:

Historial académico

Fecha de inicio de la carrera: Abril 2016 – Agosto 2016

Fecha de Finalización: Noviembre 2020 – Marzo 2021

Aprobación en Consejo Directivo: 26 de enero del 2021

Tutora: Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

Tema: Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos (Nematodos)

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

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

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

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

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

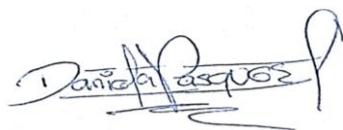
CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. EL CESIONARIO podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 8 días del mes de marzo de 2021.



Kerly Daniela Vásquez Salazar

LA CEDENTE

PhD. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el título:

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

Latacunga, 08 de marzo de 2021



Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar

Docente Tutor

C.I: 0501616353

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

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

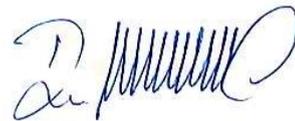
Latacunga, 08 de marzo del 2021

**EDIE GABRIEL
MOLINA
CUASAPAZ**

Firmado digitalmente por EDIE
GABRIEL MOLINA CUASAPAZ
Fecha: 2021.03.05 17:03:43 -05'00'

Lector 1 (Presidente)

MVZ. Mtr. Eddie Gabriel Molina Cuasapaz
C:C: 1722547278



Lector 2

Dr. Mg. Jorge Washington Armas Cajas
C:C: 0501556450



Lector 3

MVZ. Mg. Paola Jael Lascano Armas
C:C: 0502917248

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a mi padre Sergio Vásquez por brindarme la sabiduría y fortaleza de seguir día a día en la lucha por mis sueños.

A mi madre Marlene Salazar quien con su amor y sacrificio me acompañó en cada larga y agotadora noche de estudio, apoyándome siempre a seguir adelante y no rendirme jamás.

A mis hermanos Sergio y Santiago Vásquez, al igual que a un gran amigo de la familia Amable Ruiz quienes me brindaron su cariño, fuerza y apoyo desde el inicio de mi carrera universitaria en lo moral y económicamente, agradezco sus consejos y compañía que paso a paso me ayudaron a cumplir mi meta; A mis amigos por el apoyo emocional que me han brindado para no rendirme a lo largo de mi tesis.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi por darme la oportunidad de seguir mi carrera soñada. Al igual que los docentes de la carrera de Medicina Veterinaria que gracias a sus conocimientos impartidos ciclo a ciclo contribuyeron a mi formación académica superior.

Y por último agradecer a mi tutora de tesis la Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar. y a mi lector el MVZ. Mtr. Eddie Gabriel Molina quienes con su paciencia y apoyo a lo largo de este ciclo me han brindado los conocimientos necesarios como guía fundamental para la elaboración y culminación de este proyecto de investigación.

Kerly Daniela Vásquez Salazar

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño a mi querida madre Marlene Salazar por el apoyo incondicional que me ha brindado en esos momentos de desvelo, tristeza, frustración, miedo y alegría que pasé a lo largo de mi carrera universitaria, que con su paciencia y consejos me ayudo a seguir adelante para cumplir mi meta desea. Porque sin ella no lo habría logrado. Por tal motivo le dedico mi tesis en ofrenda por su esfuerzo diario y amor incondicional que me brinda siempre. Te amo madre mía.

Kerly Daniela Vásquez Salazar

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

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

AUTORA: Vásquez Salazar Kerly Daniela

RESUMEN

El presente proyecto de investigación, está basado en una metodología documental, donde se desarrolló el análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos en este caso los Nematodos, esta información será fundamental para los biotecnólogos en la elaboración de una vacuna de ADN con la finalidad de crear inmunidad en las distintas especies animales, y disminuir el uso excesivo de desparasitantes que mucha de las veces no tienen efecto, logrando así reducir los gastos en el manejo e incrementando la economía de los productores de animales domésticos. Para ello se recopiló y seleccionó los principales genes inmunológicos en los Parásitos Nematodos de las distintas especies animales como: caninos, felinos, bovinos, porcinos, equinos, ovinos, caprinos, camélidos sudamericanos, aves (gallina, ganso, pavo y pato). Esta información se obtuvo a través del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), dicho sistema proporcionó información esencial como funciones, estructura y localización (tanto celular como cromosómica) de los genes, los efectos clínicos de las mutaciones, así como las similitudes entre secuencias y estructuras biológicas que tiene cada uno de los parásitos Nematodos, una vez recopilada la información necesaria se generó una base de datos distribuida por: especie animal, gen, localización, cromosoma, número de exones, exones relacionados con la respuesta inmunitaria, secuencia de ARNm, inmunidad, patologías donde se evidencio y referencia, gracias a esta base de datos se obtuvo como resultado la obtención de las regiones promotoras de cada gen relacionado con la respuesta inmunitaria que son: Caninos: exón 3 y 4 de IFN- γ , exón 1 y 5 de IL-10; Felinos: exón 2 de IFN- γ ; Porcino: intrón 1 de TNF- α ; Equino: exón 1 de TNF- α y exón 4 de IFN- γ ; Ovino: intrón 1 y 3 de IFN- γ ; Caprino: intrón 1 de IFN- γ ; Aves (Gallina y Patos): exón 4 de IFN- γ en gallinas y exón 5 de IFN- γ en patos. Se consideró a estas regiones promotoras esenciales por dar una respuesta inmunitaria ante la presencia de los parásitos Nematodos en cada especie animal y contribuir en la eliminación de los parásitos, evitar su replicación y favorecer la resistencia al desarrollo de la enfermedad. Por lo tanto, estas secuencias codificantes son candidatos principales para la elaboración de las vacunas de ADN y así generar inmunidad en las distintas especies animales ante las enfermedades causadas por estos parásitos.

Palabras claves: Parásitos Nematodos, Gen, Secuencia Codificante, Exón, Inmunidad, Vacunas de ADN.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: "ANALYSIS OF THE CODING SEQUENCES OF GENES RELATED TO THE IMMUNE RESPONSE TO NEMATODE PARASITES "

AUTHOR: Vásquez Salazar Kerly Daniela

ABSTRACT

This research project is based on a documentary methodology, where the analysis of the coding sequences of the genes related to the immune response to parasites was developed, in this case Nematodes, this information will be essential for biotechnologists in the elaboration of a DNA vaccine in order to create immunity in the different animal species, and reduce the excessive use of dewormers that many of the times have no effect, thus reducing management expenses and increasing the economy of domestic animal producers . For this, the main immunological genes in the Nematode Parasites of the different animal species were collected and selected, such as: canines, felines, bovines, pigs, horses, sheep, goats, South American camelids, birds (hen, goose, turkey and duck). This information was obtained through the National Center for Biotechnology Information (NCBI), said system provided essential information such as functions, structure and location (both cellular and chromosomal) of genes, the clinical effects of mutations, as well as the similarities between sequences and biological structures of each of the nematode parasites, once the necessary information was collected, a database was generated distributed by: animal species, gene, location, chromosome, number of exons, exons related to the response immune system, mRNA sequence, immunity, pathologies where evidence and reference were made, thanks to this database, the results obtained were obtained to obtain the promoter regions of each gene related to the immune response, which are: Canines: exon 3 and 4 of IFN-g, exon 1 and 5 of IL-10; Felines: exon 2 of IFN-g; Porcine: intron 1 of TNF- α ; Equine: exon 1 of TNF- α and exon 4 of IFN-g; Sheep: intron 1 and 3 of IFN-g; Goat: intron 1 of IFN-g; Poultry (Chicken and Ducks): exon 4 of IFN-g in chickens and exon 5 of IFN-g in ducks. These promoter regions were considered essential for giving an immune response to the presence of Nematodes parasites in each animal species and contributing to the elimination of parasites, preventing their replication and favoring resistance to the development of the disease. Therefore, these coding sequences are main candidates for the elaboration of DNA vaccines and thus generate immunity in the different animal species against the diseases caused by these parasites.

Keywords: Nematode Parasites, Gene, Coding Sequence, Exon, Immunity, DNA Vaccines,

ÍNDICE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE PRELIMINARES	xi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	2
3.1 Directos:.....	2
3.2 Indirectos:	2
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:.....	3
5. OBJETIVOS:.....	4
5.1 General.....	4
5.2 Específicos	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	7
7.1. NEMATODOS	7
7.1.1. Principales Parásitos Nematodos que afectan a las especies animales domésticas.	7
7.2. VACUNAS.....	8
7.2.1. Función de las vacunas.	8
7.3. VACUNOLOGIA REVERSA O INVERSA.....	9
7.3.1. Limitaciones de la Vacunología Inversa.....	9
7.3.2. Bioinformática.....	10
7.4. VACUNAS DE ADN.....	10
7.4.1. Mecanismo de la Vacuna de ADN.....	10
7.4.2. Ventajas de las Vacunas de ADN.....	11
7.4.3. Desventajas de las Vacunas de ADN.....	11
7.5. GEN.....	12
7.6. SECUENCIA CODIFICANTE.....	12
7.6.1. Exón e Intrón.....	13
7.6.2. Regiones de ARN mensajero.....	13
7.6.2.1. Región 5' UTR.....	13
7.6.2.2. Región que codifica a proteínas.....	13
7.6.2.3. Región 3' UTR.....	13
7.7. SINTESIS DE PROTEINAS.....	14
7.8. RESPUESTA INMUNITARIA.....	14
7.8.1. Genes inmunológicos.....	15
7.8.2. Genes de acción inmunitaria.....	15
7.9. INMUNOGLOBULINAS.....	17

7.9.1. Tipos de inmunoglobulinas.....	18
7.10. INMUNIDAD PARASITARIA.	18
7.10.1. INMUNIDAD FRENTE A NEMATODOS.....	18
7.10.1.1 Inmunidad Humoral.....	19
7.10.1.2 Inmunidad Celular.	19
7.11. VACUNAS DE ADN CONTRA NEMATODOS.....	19
7.11.1. Haemonchus contortus.....	19
7.11.2. Trichinella spiralis.	20
7.12.CENTRO NACIONAL PARA LA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI).	20
7.12.1. Responsabilidades del NCBI.	21
8. PREGUNTAS CIENTIFICAS.	22
9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:	23
9.1. Tipo de Investigación.....	23
9.2. Método.....	23
9.3. Técnicas.	23
10. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	24
10.1. Genes de Parásitos Nematodos en Caninos.....	24
10.2. Genes de Parásitos Nematodos en Felinos.....	27
10.3. Genes de Parásitos Nematodos en Bovinos.....	30
10.4. Genes de Parásitos Nematodos en Porcinos.	33
10.5. Genes de Parásitos Nematodos en Equinos.	36
10.6. Genes de Parásitos Nematodos en Ovinos.....	39
10.7. Genes de Parásitos Nematodos en Caprinos.....	42
10.8. Genes de Parásitos Nematodos en Aves.....	45
10.9. Genes de Parásitos Nematodos en Camélidos Sudamericanos.....	48
11. IMPACTOS.....	48
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
12.1. Conclusiones.....	48
12.2. Recomendaciones.....	49
13. BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXOS.....	58

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Caninos.	26
Tabla 2. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Felinos.	29
Tabla 3. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Bovinos.	32
Tabla 4. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Porcinos.	35
Tabla 5. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Equinos.	38
Tabla 6. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Ovinos.	41
Tabla 7. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Caprinos.	44
Tabla 8. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Gallinas.	47
Tabla 9. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Patos.	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.- AVAL DE TRADUCCIÓN	59
Anexo 2.- HOJA DE VIDA DOCENTE TUTOR.....	60
Anexo 3.- HOJA DE VIDA - ESTUDIANTE	61
Anexo 4.- BASE DE DATOS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES DE PARÁSITOS NEMATODOS	62

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: “Análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los Parásitos Nematodos.”

Fecha de inicio: 04 de noviembre del 2020

Fecha de finalización: 26 de febrero del 2021

Facultad que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia: Carrera de Medicina Veterinaria.

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

Equipo de Trabajo de investigación:

Dra. Mg. Nancy Margoth Cueva Salazar (Anexo 2).

Kerly Daniela Vásquez Salazar (Anexo 3).

Área de Conocimiento:

AGRUCULTURA, SILVICULTURA Y PESCA

Sub área:

64. VETERINARIA, Auxiliar de Veterinaria. Línea de investigación: Análisis, Conservación y Aprovechamiento de la Biodiversidad Local.

Línea de investigación: Salud Animal

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

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El presente proyecto de investigación se realizó con la finalidad de recopilar información sobre las secuencias codificantes de los genes de parásitos Nematodos, los mismos que están presentes en las distintas especies animales, provocando, pérdidas económicas y zoonosis. Actualmente los helmintos se tratan con desparasitantes, sin embargo, hay estudios afirmando que los parásitos nematodos están creando resistencia a dichos tratamientos. Por tal motivo esta investigación se basa en el estudio y análisis ampliado de los exones específicos de cada gen, que serán necesarios para la fabricación de una vacuna de ADN, que consiste en la introducción directa de ADN a través de un plásmido o vector de expresión. Dicho ADN codifica una proteína viral antigénica de interés, en este caso de los parásitos (Nematodos), que inducirá la activación del sistema inmune, de esta forma se puede inducir tanto anticuerpos neutralizantes (respuesta humoral) o como inmunidad medida por linfocitos T citotóxicos (respuesta celular), a las distintas especies animales ante dichos parásitos.

Esta información se obtuvo del Centro Nacional para la Información Biotecnológica o Nacional (NCBI), artículos científicos, revistas científicas, artículos académicos, entre otros. Con la información obtenida, se elaborará una base de datos que permitirá realizar numerosos avances en el ámbito genético, una de ellas es comprender las complejas interacciones entre huésped y parásito con la finalidad de elaborar una futura vacuna de ADN.

La base de datos tendrá como beneficiarios a biotecnólogos, productores de animales de granja, dueños de mascotas, por otro lado, el aporte que brindara la presente investigación es de tipo técnica, por la recopilación y análisis de las secuencias codificantes de los genes de parásitos (Nematodos) que será de gran aporte para la elaboración de una vacuna de ADN.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 Directos:

- Biotecnólogos Médicos.
- Proyecto de Investigación Mecanismo Inmunológico humoral en animales domésticos.

3.2 Indirectos:

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

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN:

La variación en la secuencia de ADN de una especie es la materia prima sobre la que actúa la selección natural y, por lo tanto, el estudio de los patrones de variación de las secuencias de los genes de una especie es imprescindible para entender los mecanismos de la evolución a nivel molecular (1).

La prevalencia general en Latinoamérica de helmintos Nematodos en mascotas es del 22.2% al 76.5%, la amplia variación se debe a que las condiciones de vida y medioambientales de los animales son muy diversas en cada país. La prevalencia general registrada para *Toxocara canis* es de 19.75%, *Ancylostoma caninum* 9.26%, *Diphylidium caninum* 8.64%, *Toxocara leonina* 6.17% y *Taenia sp.* 4.32% (2).

En animales de producción el 76% se encuentran infectados, donde el 69.5% se presentan alta prevalencia de infección por *Trichostrongilidos*, siendo *Haemonchus contortus* 61.3%, *Teladorsagia circumcincta* 25.5% y *Trichostrongylus sp* 21.5% los parásitos más frecuentes (3). Pues se caracterizan por producir enfermedades acompañadas de pérdida de peso, alteración de la aptitud reproductiva y el rendimiento de lactancia, retraso en el crecimiento, anemia e incluso muerte (4).

Ecuador no cuenta con los estudios e información detallada acerca del comportamiento de los parásitos en este caso los Nematodos, sobre todo a nivel molecular que permita comprender los patrones de variación de las secuencias de los genes codificantes conocidos como exones y como estos son relacionados a la respuesta inmunitaria de dichos parásitos. De tal forma, el desconocimiento de estos temas impide establecer con precisión maneras de prevenir enfermedades producidas por estos parásitos.

5. OBJETIVOS:

5.1 General

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

5.2 Específicos

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

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

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	ACTIVIDAD (TAREA)	RESULTADOS DE LAS ACTIVIDADES.	DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD.
Investigar las secuencias codificantes de los genes de los parásitos (Nematodos) de la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica.	Revisión bibliográfica de los parásitos nematodos de las distintas especies animales domésticas y producción. Análisis de las secuencias codificantes de los genes en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).	<p>Genes relacionados con la inmunidad de parásitos Nematodos para elaboración de Vacuna de ADN:</p> <p>Caninos: 2 / Felinos: 2 / Bovinos: 1 / Porcinos: 1 / Equinos: 4 / Ovinos: 2 / Caprinos: 2 / Aves (gallina, pato, ganso y pavo): 1 / Camélidos Sudamericanos: 1</p> <p>N° de Secuencias Codificantes en los genes relacionados con la inmunidad de parásitos Nematodos:</p> <p>Caninos: 9 / Felinos: 9 / Bovinos: 4 / Porcinos: 4 / Equinos: 16 / Ovinos: 8 / Caprinos: 8 / Aves (gallina, pato, ganso y pavo): 10 / Camélidos Sudamericanos: 4</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Artículos Científicos • Revistas científicas • Libros • Libros electrónicos, • Base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).
Elaborar una base de datos de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (Nematodos) de diferentes especies animales.	Comprobar los datos obtenidos sobre las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad de los parásitos Nematodos, implementando una base de datos en Excel.	<p>Datos completos (Gen, cromosoma, localización, N° de exones, exón relacionado con la respuesta inmunitaria, secuencia de ARNm, patologías donde se evidencio, y referencia)</p> <p>Caninos: 100%</p> <p>Felinos: 67% /Datos Incompletos (Gen, cromosoma, localización): 12% /Sin Datos: 21%</p> <p>Bovinos: 100%</p> <p>Porcinos: 100%</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Artículos Científicos • Revistas científicas • Libros • Libros electrónicos, • Base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).

		<p>Equinos: 67% /Datos Incompletos (Gen, cromosoma, localización): 12% /Sin Datos: 21%</p> <p>Ovinos: 67% /Datos Incompletos (Gen, cromosoma, localización): 12% /Sin Datos: 21%</p> <p>Caprinos: 67% /Datos Incompletos (patologías donde se evidencio): 29% /Sin Datos: 4%</p> <p>Gallinas: 100%</p> <p>Patos: 100%</p> <p>Pavos: 37% / Sin Datos: 63%</p> <p>Camélidos Sudamericanos: 37% / Sin Datos: 63%</p>	
--	--	--	--

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.

7.1. NEMATODOS

El phylum Nematoda contiene un número muy elevado de especies parásitas de plantas y animales, pero también especies de vida libre que pueden desarrollarse tanto en el suelo como en el agua. Los nematodos, también denominados "gusanos redondos", cuentan con un aparato digestivo completo, que se inicia en la boca, y termina en el ano (cloaca en los machos). Otra característica es, precisamente, que tienen sexos separados, además de presentar una cavidad pseudocelómica donde se localizan los distintos sistemas orgánicos (5). Los nematodos son el grupo con el mayor número de especies parásitas en ganado, perros y gatos.

7.1.1. Principales Parásitos Nematodos que afectan a las especies animales domésticas.

ESPECIE ANIMAL	PARÁSITOS NEMATODOS
Caninos	<i>Ancylostoma spp</i> , <i>Bayliascaris procyonis</i> , <i>Gnathostoma hispidum</i> , <i>Gongylonema spp</i> , <i>Physaloptera spp</i> , <i>Spirocerca lupi</i> , <i>Strongyloides spp</i> , <i>Toxascaris leonina</i> , <i>Toxocara canis</i> , <i>Trichuris spp</i> , <i>Uncinaria stenocephala</i> , <i>Crenosoma vulpis</i> , <i>Eucoleus bohmi</i> , <i>Angiostrongylus vasorum</i> , <i>Capillaria spp</i> , <i>Dirofilaria spp</i> , <i>Diectophyma renale</i> , <i>Onchocerca spp</i> , <i>Trichinella spp</i> .
Felinos	<i>Ancylostoma spp</i> , <i>Gnathostoma hispidum</i> , <i>Gongylonema spp</i> , <i>Ollulanus tricuspis</i> , <i>Physaloptera spp</i> , <i>Strongyloides spp</i> , <i>Toxascaris leonina</i> , <i>Toxocara cati</i> , <i>Trichuris spp</i> , <i>Uncinaria stenocephala</i> , <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> , <i>Trichinella spp</i> , <i>Capillaria spp</i> , <i>Dirofilaria spp</i> , <i>Diectophyma renale</i> , <i>Mammomonogamus spp</i> , <i>Thelazia spp</i> .
Bovinos	<i>Bunostomum spp</i> , <i>Haemonchus spp</i> , <i>Cooperia spp</i> , <i>Mecistocirrus digitatus</i> , <i>Nematodirus spp</i> , <i>Toxocara vitulorum</i> , <i>Oesophagostomum spp</i> , <i>Teladorsagia spp</i> , <i>Strongyloides spp</i> , <i>Ostertagia spp</i> , <i>Neascaris vitulorum</i> , <i>Trichostrongylus spp</i> , <i>Thelazia spp</i> , <i>Trichuris spp</i> , <i>Dictyocaulus spp</i> , <i>Mammomonogamus spp</i> , <i>Onchocerca spp</i> , <i>Parafilaria spp</i> , <i>Setaria spp</i> , <i>Stephanofilaria stilesi</i> .
Porcinos	<i>Ascaris suum</i> , <i>Globocephalus spp</i> , <i>Gnathostoma hispidum</i> , <i>Hyostrongylus rubidus</i> , <i>Mecistocirrus digitatus</i> , <i>Oesophagostomum spp</i> , <i>Strongyloides spp</i> , <i>Trichuris spp</i> , <i>Metastrongylus spp</i> , <i>Setaria spp</i> , <i>Stephanurus dentatus</i> , <i>Suifilaria suis</i> , <i>Trichinella spp</i> .
Equinos	<i>Ciatostómidos</i> , <i>Gongylonema spp</i> , <i>Habronema spp</i> , <i>Oxyuris equi</i> , <i>Parascaris equorum</i> , <i>Strongyloides spp</i> , <i>Strongylus spp</i> , <i>Trichostrongylus spp</i> , <i>Trichuris spp</i> , <i>Onchocerca spp</i> , <i>Parafilaria spp</i> , <i>Setaria spp</i> , <i>Thelazia spp</i> .

Caprinos	<i>Cooperia spp, Bunostomum spp, Gongylonema spp, Chabertia ovina, Haemonchus spp, Mecistocirrus digitatus, Nematodirus spp, Oesophagostomum spp, Teladorsagia spp, Skrjabinema spp, Strongyloides spp, Ostertagia spp, Trichostrongylus spp, Thelazia spp, Trichuris spp, Mammomonogamus spp, Dictyocaulus spp, Muellerius capillaris, Protostrongylus rufescens.</i>
Ovinos	<i>Bunostomum spp, Chabertia ovina, Cooperia spp, Gongylonema spp, Haemonchus spp, Mecistocirrus digitatus, Thelazia spp, Nematodirus spp, Oesophagostomum spp, Teladorsagia spp, Skrjabinema spp, Strongyloides spp, Ostertagia spp, Trichostrongylus spp, Trichuris spp, Dictyocaulus spp, Mammomonogamus spp, Protostrongylus rufescens, Muellerius capillaris, Setaria spp.</i>
Aves	<i>Ascaridia galli, Capillaria spp, Heterakis gallinarum, Strongyloides spp, Subulura spp, Tetrameres spp, Syngamus trachea, Oxyspirura spp</i>
Camélidos Sudamericanos	<i>Teladorsagia circumcincta, Oesophagostomum columbianum, Nematodirus, Bonustonum, Haemonchus, Capillaria, Trichostrongylus columbiformis, Lamanema chavezii, Trichuris, Coopeira, Skrajabinema, Graphinema aucheniae, Mazamastrongylus peruvianus, Camelostrongylus mentulatus, Nematodirus lamae, Lamanema chavezii.</i>

7.2. VACUNAS.

Las vacunas son productos biológicos que contienen uno o varios antígenos que se administran con el objetivo de producir un estímulo inmunitario específico. Este estímulo pretende simular la infección natural, generando una respuesta inmunitaria específica en el sujeto, con el fin de protegerlo en ulteriores exposiciones al microorganismo con el menor riesgo posible para el individuo (6).

Por lo tanto, consiste en la preparación biológica que se inyecta a un individuo para inducir deliberadamente la generación de una respuesta inmune adaptativa contra ese patógeno (específica + memoria) para protegerlo del desarrollo de la enfermedad que causa el patógeno. Las vacunas se pueden clasificar básicamente en: vivas (atenuadas), inactivadas, de subunidades, toxoides, de ADN y de vectores recombinantes (7).

7.2.1. Función de las vacunas.

Después de aplicar una vacuna, la imitación de la infección puede provocar síntomas menores, como fiebre. Esos síntomas menores son normales y previsibles mientras el cuerpo desarrolla la inmunidad. Una vez que la imitación de la infección desaparece, al cuerpo le queda un suministro de linfocitos T de “memoria” y también de linfocitos B que recordarán cómo combatir esa enfermedad en el futuro. Sin embargo, el cuerpo

suele tardar algunas semanas en producir linfocitos T y linfocitos B después de la vacunación (8).

Por lo tanto, es posible que un animal que contrajo una enfermedad por infección justo antes o justo después de vacunarse desarrolle síntomas y contraiga la enfermedad, porque la vacuna no tuvo suficiente tiempo de brindar protección.

7.3. VACUNOLOGIA REVERSA O INVERSA.

El desarrollo de una vacuna comienza con la identificación, en el microorganismo, de componentes o estructuras únicas capaces de generar una respuesta inmune protectora; que sean capaces de activar la respuesta por las células T cooperadoras. Con las técnicas convencionales, éste puede ser un proceso largo y tedioso, que comúnmente se realizan pruebas de ensayo y error hasta encontrar el candidato más adecuado, sin tomar en cuenta la facilidad con que pueda ser cultivado el microorganismo en el laboratorio (9).

Posteriormente, gracias al desarrollo y optimización de tecnologías como la bioinformática, se ha podido obtener el genoma completo de numerosos microorganismos y diseñar programas que aceleren el estudio de las variables. Una de las características de la vacunología inversa es que no se hace necesario cultivar el microorganismo, sino que el proceso comienza con la información del genoma en una base de datos (10). En el ordenador se realiza la selección de los candidatos vacunales y una vez seleccionados, la secuencia de los genes que los codifican son amplificados, clonados, expresados y purificados como proteínas recombinantes que serán utilizadas en la inmunización de animales de experimentación y finalmente evaluadas en cuanto a la capacidad de inducir respuesta inmune (11).

7.3.1. Limitaciones de la Vacunología Inversa.

- Cuando la causa de la enfermedad está en microorganismos que no se pueden cultivar en el laboratorio.
- Cuando la causa de la enfermedad es por organismos que sufren gran variación antigénica, y la vacuna protege sólo contra la cepa que se usó para desarrollarla.
- Es difícil hacer una buena correlación patógeno-huésped, por el restringido conocimiento que se pudiera tener de los candidatos antigénicos obtenidos por el análisis en un operador (12).

7.3.2. Bioinformática.

Es una ciencia que surge de la necesidad de interpretar la información contenida en las secuencias de DNA, RNA y proteínas. Desde que se difundieron las técnicas de secuenciación de DNA y proteínas, y se incrementó el volumen de secuencias en los bancos de datos, surgió la necesidad de desarrollar algoritmos para catalogar secuencias, analizar similitud entre ellas, así como descubrir sus propiedades estructurales y funcionales (13).

Puede considerarse que en sus inicios la bioinformática se limitó al entendimiento de la función y estructura de genes o proteínas individuales. Sin embargo, la masificación de la secuenciación en proyectos de genoma y transcriptoma llevaron el alcance de la bioinformática a otra escala al permitir el análisis, ya no de genes individuales, sino del complemento genético completo de un organismo (14).

7.4. VACUNAS DE ADN.

Las vacunas de ADN, también conocidas como vacunas genéticas, vacunas de ácidos nucleicos o vacunas de ADN desnudo, entre otros términos, emplean una metodología relativamente simple que ha abierto una nueva era en la inmunología, con un alto potencial como vacunas profilácticas y terapéuticas (15).

En lugar de incluir al agente infeccioso (atenuado o muerto) o proteínas del mismo, las vacunas génicas están constituidas por genes que codifican antígenos clonados en plásmidos, pequeños anillos de ADN de doble cadena (producidos en gran escala por bacterias), incapaces de producir infección, pero que al ser inoculados expresan antígenos en la célula huésped (16). Son un nuevo enfoque prometedor para generar todos los tipos de inmunidad deseada: linfocitos T citolíticos (CTL), células T auxiliares y anticuerpos, al mismo tiempo que es una tecnología que tiene el potencial de uso global en términos de facilidad de fabricación, administración de población amplia y seguridad (17).

7.4.1. Mecanismo de la Vacuna de ADN.

Las vacunas génicas pueden acarrear genes que codifican una o más proteínas antigénicas de uno o varios agentes patógenos y que son capaces de inducir inmunidad protectora; además, se pueden incluir genes que potencian la respuesta inmune. Los genes de los antígenos elegidos, son aquellos que estimulan eficientemente el sistema

inmune y son expresados en su oportunidad por el huésped después de que el ADN penetra el núcleo de una célula del individuo vacunado (18).

Los antígenos así producidos se presentan al sistema inmune de dos maneras:

- Emergen de las células transfretadas y son detectados, procesados y presentados al sistema inmune, por macrófagos y otras células presentadoras de antígeno, acopladas a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase II (19).
- Se fraccionan en el citoplasma y son presentados en la membrana celular, ahora con moléculas del CMH clase I. Así, una vacuna génica genera una respuesta inmune completa, en cuanto a inmunidad humoral y celular, que en ocasiones no se obtiene con las vacunas tradicionales, sobre todo con las vacunas de virus "muertos" o subunidades, que suelen carecer de una presentación de antígenos por moléculas del CMH clase I (20).

7.4.2. Ventajas de las Vacunas de ADN.

- Inducen respuestas Tc como consecuencia de la síntesis in vivo del antígeno y de su presentación a las células presentadoras del antígeno a través de la vía del complejo principal de histocompatibilidad de la clase I.
- Su coste de producción es bajo y son relativamente fáciles de fabricar, ya que el proceso es único para todas las vacunas obtenidas con esta tecnología.
- Son muy termoestables, por lo que no es necesario mantener la cadena del frío. Esta característica hace de estas vacunas un instrumento potencialmente muy útil en los programas de vacunación de los países en vías de desarrollo.
- Es posible la fabricación de vacunas frente a múltiples antígenos, bien incluyendo los genes que codifican para diferentes antígenos en el mismo plásmido, lo que comportaría expresión colinear con un solo vector, bien mezclando diferentes plásmidos con un solo gen en la misma vacuna.
- La facilidad con que se pueden clonar los genes en el plásmido facilita la producción rápida de vacunas (21).

7.4.3. Desventajas de las Vacunas de ADN.

- Posibilidad de que el ADN administrado pueda integrarse en el material cromosómico del huésped vacunado y pueda causar mutaciones insercionales ya sea

por la activación de protooncogenes, ya por la inactivación de genes supresores de tumores.

- Posibilidad de la aparición de tolerancia frente al antígeno extraño. Ésta fue una de las primeras preocupaciones de los investigadores que trabajan con este tipo de vacunas.
- Posibilidad de respuestas inmunitarias frente al ADN y aparición de autoinmunidad. Esto hecho se considera posible, pero nunca ha podido ser demostrado, ni siquiera en los modelos animales.
- Posibilidad de producción de efectos inmunoestimulatorios (22).

7.5. GEN.

Es la unidad física y funcional esencial de la herencia, es decir una secuencia ordenada de nucleótidos localizados en una posición específica en un cromosoma que codifica un producto funcional específico como una proteína o también de ARN como: ARNm, AaRNr y ARNt (23)

Cuando los genes se expresan, se desarrollan los caracteres, es decir, el fenotipo de un individuo. La transmisión y expresión de los genes se lleva a cabo mediante tres procesos que constituyen el "Dogma central de la Genética Molecular" (24), que son:

- **Replicación:** Es el proceso por el cual el ADN se copia para ser transmitido a nuevos individuos.
- **Transcripción;** es el proceso de síntesis de una cadena de ARN, cuya secuencia es idéntica a la de una cadena de ADN.
- **Traducción:** Es el proceso de síntesis de proteínas llevado a cabo en los ribosomas, a partir de la información aportada por el ARN mensajero que es, a su vez, una copia de un gen (25).

7.6. SECUENCIA CODIFICANTE.

Las secuencias codificantes de proteínas son secuencias de ADN que se transcriben en ARNm y en las que las moléculas de ARNm correspondientes se traducen en una cadena polipeptídica. Cada tres nucleótidos, denominados codón, en una secuencia codificante de proteína codifica 1 aminoácido en la cadena polipeptídica (26).

A nivel estructural se amplía la idea de un gen como un segmento de ADN constituido por intrones y exones, para concebirlo como una estructura que además contiene secuencias reguladoras y regiones promotoras (27).

7.6.1. Exón e Intrón.

En la secuencia del ADN el contenido codificante de un gen no está distribuido de forma continua a lo largo de dicho gen, sino que tienen discontinuidades, llamadas intrones, cuya secuencia no codifica proteínas. Las partes de la secuencia que codifican proteínas son los exones (28). Tras la transcripción, el ARNm resultante es procesado mediante un mecanismo llamado splicing y los intrones son eliminados, resultado en un ARNm maduro que contiene únicamente la información de los exones.

7.6.2. Regiones de ARN mensajero.

Las moléculas de ARN mensajero contienen tres regiones principales: una región 5' no traducida, una región que codifica a proteínas, y una región 3' no traducida. Las regiones 3' y 5' no traducidas no codifican ningún aminoácido de la proteína (29).

7.6.2.1. Región 5' UTR.

La región 5' no traducida en ocasiones llamada la líder, es una secuencia de nucleótidos del extremo 5' del mRNA, que no codifica la secuencia de aminoácidos de una proteína. En el ARNm bacteriano, esta región contiene una secuencia consenso denominada secuencia Shine-Dalgarno, que sirve como sitio de unión de los ribosomas durante la traducción: se encuentran aproximadamente siete nucleótidos en dirección 5' con respecto al primer codón traducido a aminoácido (llamado codón de iniciación). El ARNm eucarionte no tiene una secuencia consenso equivalente en su región 5' no traducida. En las células eucariontes los ribosomas se unen a un extremo 5' modificado de un ARNm (30).

7.6.2.2. Región que codifica a proteínas.

La región que codifica proteínas, la cual comprende los codones que especifican la secuencia de aminoácidos de la proteína. La región que codifica proteínas comienza con un codón de iniciación y finaliza con un codón de terminación (30).

7.6.2.3. Región 3' UTR.

La última región del ARNm es la región 3' no traducida (a veces llamada remolque), una secuencia de nucleótidos en el extremo 3' del ARNm que no se traduce a

proteínas. La región 3' no traducida afecta la estabilidad de ARNm y la traducción de la secuencia de ARNm que codifica la proteína (31).

7.7. SINTESIS DE PROTEINAS.

Las proteínas son macromoléculas que cumplen funciones variadas. Hay proteínas estructurales, otras son enzimas, otras transportan oxígeno como la hemoglobina, hay proteínas involucradas en la defensa inmunitaria, como los anticuerpos, otras cumplen funciones de hormonas como la insulina, etc (32).

Así como el ADN está compuesto a partir de nucleótidos, las proteínas están compuestas a partir de aminoácidos. Hay 20 aminoácidos diferentes, y cada proteína tiene una secuencia de aminoácidos particular (33), mientras otros se fabrican en el organismo mediante enzimas.

Cuando se junta una cadena de aminoácidos, se pliega sobre sí misma creando una compleja estructura tridimensional, que determina su función en el organismo. Dado que el plegado está determinado por una secuencia de aminoácidos precisa, cada secuencia distinta da como resultado una proteína distinta. Algunas proteínas (como la hemoglobina) contienen varias cadenas plegadas. Las instrucciones para la síntesis de proteínas están codificadas en el ADN (34).

El proceso de síntesis de proteínas consta básicamente de dos etapas: la transcripción y la traducción. En la primera etapa, las “palabras” (genes) escritas en el ADN en el lenguaje de los nucleótidos se copian o transcriben a otra molécula, el ARN mensajero (ARNm). Luego, en la etapa siguiente, el ARNm se traduce al idioma de las proteínas, el de los aminoácidos (35)

7.8. RESPUESTA INMUNITARIA.

El sistema inmune no existe en un órgano definido. Es un conjunto de tejidos, células y moléculas que interactúan y forman un frente común para integrar una respuesta: la llamada respuesta inmune. La mayoría de las veces esta respuesta es de naturaleza defensiva y se produce ante un agente exógeno o endógeno, que resulta extraño al organismo, denominado antígeno (Ag). El sistema inmune está capacitado para reconocer lo que le es propio y así mantener la individualidad del organismo (36).

En la respuesta inmune también participan proteínas (citoquinas) liberadas por las células que les permite comunicarse y coordinarse durante la respuesta, las cuales actúan a dosis bajas tras unirse a receptores específicos en las células diana, y entre

ellas encontramos las interleuquinas que regulan las relaciones entre los leucocitos; las quimioquinas que actúan sobre la circulación y migración de los leucocitos participando en la inflamación; los interferones, los factores de necrosis tumoral y los factores de crecimiento (37).

7.8.1. Genes inmunológicos.

El sistema inmune tiene muchos vínculos con la genética y la herencia esta asociación se da porque cualquier sustancia o compuesto que produzca un organismo, es un antígeno potencial cuando es reconocido como extraño por el sistema inmune de otro organismo, sea este de la misma o de diferente especie (38). El sistema inmunológico desempeña la función más importante en la respuesta a las enfermedades. Un sistema tan complejo como éste, involucra a muchos componentes que son dirigidos por una extensa red genética (39).

Así tenemos que mientras el genoma inmunológico no muestra mecanismos genéticos más reactivos que el genoma como un todo, ciertas porciones de éste sí lo hace, especialmente el Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC, en inglés). El MHC es una región dinámica que justifica consideración durante el estudio de la biología molecular que sirve de base a la enfermedad (40).

La producción de proteínas que potencialmente pueden ser antigénicas están ligadas al genotipo del individuo. La capacidad de responder y el tipo e intensidad de respuesta a antígenos también ha sido demostrado que están correlacionados con el genotipo del individuo en cuestión, así como deficiencias en las respuestas inmunes pueden estar asociadas con mutaciones o polimorfismos genéticos que resultan en la susceptibilidad a enfermedades infecciosas (41).

7.8.2. Genes de acción inmunitaria.

- **TNF- α :** El factor de necrosis tumoral alfa, es una citoquina que producen varias células del sistema inmune, principalmente macrófagos y monocitos. Cuando se produce un daño tisular o una infección, el TNF- α desarrolla una acción pro-inflamatoria tanto por sí mismo como a través de la regulación de otros mediadores inflamatorios, como las interleucinas 1 y 6 (42).
- **TNF- β :** Es un potente mediador de las respuestas inflamatoria e inmunitaria. Producido por los linfocitos T y B activados y tiene actividades similares al TNF- α . Al igual que

el TNF- α , el TNF- β participa en la regulación de varios procesos biológicos, incluida la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo de lípidos, coagulación y neurotransmisión (43).

- **TGF- β :** El factor de crecimiento transformador-beta es una citocina implicada en procesos celulares como hematopoyesis, proliferación, angiogénesis, migración diferenciación, y apoptosis celular. En mamíferos existen 3 isoformas de TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3) con funciones similares pero expresadas en diferentes tejidos (44).
- **IFN γ :** Interferón Gamma o interferón inmune tipo II es producido por linfocitos T CD4+, CD8+, células T γ/δ , así como por células NK en respuesta a algún estímulo inmune o inflamatorio. El IFN γ no comparte receptores con los interferones de tipo I y su estructura proteica es distinta (45).
- **MIP-1 α :** La proteína inflamatoria de macrófagos MIP-1 α y MIP-1 β son representativas de las quimiocinas β . La expresión de MIP-1 está restringida a células hematopoyéticas y fibroblastos y es inducida por endotoxina, interleucina (IL) -1 y factor de necrosis tumoral TNF - α (46).
- **IL-1 β :** La interleucina 1 beta (IL-1 β) es una citoquina pro inflamatoria con múltiples funciones en la respuesta inmune. Ante el daño celular o en caso de infecciones, diferentes células inmunes, entre ellas especialmente los monocitos y los macrófagos, liberan la interleucina 1 beta. Esta citoquina, que actúa sobre distintas células y órganos, es un mediador importante de la respuesta inmunitaria e inflamatoria (47).
- **IL-2:** La interleucina 2 es una citoquina con funciones muy diversas dentro de la inmunidad. Es secretada por células como los linfocitos T, las células Natural Killer o las células dendríticas, una vez que se activan al reconocer un agente potencialmente dañino para el organismo. Se induce, a su vez, la proliferación y la activación de más células de la inmunidad, poniéndose en marcha de esta forma una respuesta eficaz frente a microbios o células cancerosas (48).
- **IL-4:** La interleucina 4 es producida principalmente por los linfocitos T CD4+. Actúa estimulando los linfocitos B, produciendo más inmunoglobulinas y favoreciendo la diferenciación de estas hacia inmunoglobulina E. Gracias a ese aumento de IgE. Y va a

tener un papel importante en situaciones de alergia y cuando se producen infecciones parasitarias por helmintos (49).

- **IL-5:** La interleucina 5 es producida por linfocitos T CD4+ y mastocitos activados. Facilita la proliferación de linfocitos B y su diferenciación a células productoras de anticuerpos. Por otra parte, induce proliferación y diferenciación de eosinófilos, y activa a los eosinófilos maduros capacitándolos para ejercer su función citotóxica sobre helmintos. Su acción sobre los eosinófilos es su principal función fisiológica (50).
- **IL-6:** La interleucina 6 es una citocina que participa en la inmunidad innata y adaptativa. Se sintetiza por fagocitos mononucleares, células endoteliales, vasculares, fibroblastos y otras células en respuesta a microorganismos y otras citocinas. Contribuye en los efectos sistémicos de la inflamación por la estimulación de la síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos (51).
- **IL-10:** La interleucina 10 es una importante citocina inmunorreguladora que actúa en las células presentadoras de antígeno mediante la inhibición tanto de la síntesis de citocinas como de moléculas co-estimuladoras y moléculas HLA clase II. Su función es disminuir y regular la respuesta inflamatoria producida por las células dendríticas y los macrófagos, así como reducir las respuestas adaptativas de las células T CD4+ (52).
- **IL-12:** La interleucina 12 es liberada por células b activadas, monocitos, células dendríticas, neutrófilos y macrófagos, su principal fuente. La función más importante de la IL-12 es la inducción del interferón gamma (IFN) porque él es un mediador en la resistencia viral, fúngica, bacteriana y parasitaria (53).
- **IL-13:** La interleucina 13 posee unas características estructurales y funcionales similares a la IL-4, de la cual se diferencia por no estimular la proliferación de los blastocitos inducidos por mitógeno o clones de linfocitos -T y no promover la expresión de CD8 α en clones de linfocitos T CD4. Actúa en linfocitos -B y monocitos, inhibiendo la producción de óxido nítrico y de varias citocinas, como IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, proteína inflamatoria de macrófago -1 α , IFN α y FNT α (54).

7.9. INMUNOGLOBULINAS.

Las inmunoglobulinas (Ig) también conocidos como anticuerpos, son proteínas de importancia vital que circulan en el torrente sanguíneo y realizan una amplia variedad de funciones. Influyen notablemente sobre el equilibrio del sistema inmunitario (55).

7.9.1. Tipos de inmunoglobulinas

- **Inmunoglobulina A (IgA):** se encuentra en los recubrimientos de las vías respiratorias y del sistema digestivo, así como en la saliva, las lágrimas y la leche materna (56).
- **Inmunoglobulina G (IgG):** es el tipo de anticuerpo que más abunda en el cuerpo. Se encuentra en la sangre y en otros fluidos, y brinda protección contra las infecciones bacterianas y víricas. La IgG puede tardar un tiempo en formarse después de una infección o vacunación (57).
- **Inmunoglobulina M (IgM):** se encuentra principalmente en la sangre y en el líquido linfático; este es el primer anticuerpo que fabrica el cuerpo para combatir una nueva infección. Es de baja afinidad, pero presenta gran avidéz por antígenos multivalentes especialmente bacterianos (57).
- **Inmunoglobulina E (IgE):** normalmente se encuentra en pequeñas cantidades en la sangre. Se puede encontrar en cantidades superiores cuando el cuerpo reacciona de una manera exagerada a los alérgenos o cuando está combatiendo una infección provocada por un parásito (58).
- **Inmunoglobulina D (IgD):** es una inmunoglobulina unida a membrana de los linfocitos B. Su presencia en conjunto con IgM confiere inmunocompetencia a estos linfocitos. Está prácticamente ausente en el suero (59).

7.10. INMUNIDAD PARASITARIA.

La mayoría de los parásitos han desarrollado a lo largo de la evolución mecanismos muy sofisticados para escapar de la acción del sistema inmunitario, lo que provoca que sea muy difícil eliminarlos, y por eso muchas de estas infecciones son crónicas (60). Por lo que se puede decir que la variación antigénica es un mecanismo de escape muy eficaz en algunos parásitos.

7.10.1. INMUNIDAD FRENTE A NEMATODOS.

Los parásitos nematodos se han adaptado al hospedador y son capaces de evitar su respuesta inmune sobreviviendo y desarrollándose, estableciendo un equilibrio al producir generalmente enfermedades subclínicas y crónicas, causando enfermedad grave cuando la carga parasitaria/dosis infectiva es muy elevada o la interacción parásito-hospedador está descompensada, dependiendo esto último de factores ambientales, del hospedador y del parásito (61).

En las infecciones por nematodos particularmente las producidas por *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura* y ancilostomídeos (*A. duodenale* y *N. americanus*), las lesiones anatomopatológicas son poco intensas y el proceso infeccioso es de larga duración. Las infecciones por estos helmintos suelen estar asociadas a niveles superiores de citoquinas como IL-10 y TGF- β y de células Treg (62).

7.10.1.1 Inmunidad Humoral.

Los antígenos de los nematodos, estimulan preferentemente la activación de los linfocitos Th2. Determinando un patrón de secreción de citoquinas (IL4, IL5, IL10) que estimulan la proliferación de células B y la secreción de inmunoglobulinas. Los Acs IgM, IgG e IgA se producen en respuesta a los Ags de los helmintos, el isotipo de tipo IgE es el que participa con mayor intensidad (62).

7.10.1.2 Inmunidad Celular.

Los nematodos que penetran profundamente en la mucosa intestinal o que pasan por etapas hísticas prolongadas, son capaces de estimular respuesta inmune de tipo Th1 (IFN γ , IL2, TNF). Esta respuesta está fundamentalmente vinculada a las reacciones de hipersensibilidad retardada (granulomas) y a la activación de macrófagos (62).

7.11. VACUNAS DE ADN CONTRA NEMATODOS.

7.11.1. *Haemonchus contortus*.

Un equipo de investigación de la Universidad Complutense de Madrid ha logrado la primera inmunización con un producto recombinante frente a este nematodo, siendo el parásito más relevante del ganado ovino a nivel mundial. Hasta ahora el control de esta enfermedad se ha basado en el uso de fármacos antiparasitarios. Sin embargo, su uso indiscriminado y no eficiente, junto con el potencial adaptativo de *Haemonchus*, han provocado la aparición de poblaciones del helminto resistentes a todos los antihelmínticos disponibles. La vacuna se realizó tras la identificación del gen, se ligó a un vector de clonación, y posteriormente a un vector de expresión en la bacteria (*E.coli*) seleccionada. Como resultado se logró la producción de una proteína de bajo peso molecular (Hc23 recombinante, rHc23). El aspecto más importante, sin embargo, radicaba en la capacidad de esta proteína recombinante para inmunizar corderos frente a *H.contortus*. La inmunización con rHc23 provocó una protección muy significativa, con reducciones del 70-85% en el número de helmintos en el estómago, menores eliminaciones de huevos del parásito con las deyecciones (reducciones del 57-79%),

ausencia de alteraciones hemáticas de los animales vacunados y mayor ganancia de peso. Así, la protección inducida redujo la carga parasitaria de los corderos y minimizó el efecto patógeno más notable del helminto (anemia). La reducción de la eliminación fecal de huevos de *H. contortus* evitó los niveles elevados de huevos en el medio, reduciendo de esta forma el nivel de riesgo ambiental. Además, esta protección se logró mediante adyuvantes comerciales autorizados. Desde un punto de vista práctico, la actividad de la proteína recombinante (rHc23) apunta a su interés como candidato para su desarrollo industrial, y por ello se ha solicitado la protección de la patente sobre el antígeno y la inmunización (63).

7.11.2. *Trichinella spiralis*.

En los últimos 30 años, se han realizado una gran cantidad de esfuerzos de vacunación para controlar la infección por *T. spiralis* con el propósito de reducir la fecundidad del gusano o disminuir la carga de las larvas y los adultos del músculo. La inmunización de ratones con ADN de TsNd provocó una respuesta inmune sistémica Th1 / Th2 y una respuesta local de IgA en la mucosa. La transcripción y expresión in vitro del gen TsNd se observó en todas las etapas de desarrollo de *T. spiralis* (ML, IIL, AW y NBL). Los niveles de IgG anti-rTsNd aumentaron después de la inmunización y los niveles de IgG1 fueron obviamente más altos que los de IgG2a. Los niveles de IgA intestinal específica de los ratones inmunizados fueron significativamente más altos que los de los ratones de control de vector y PBS. El perfil de citocinas también mostró un aumento significativo en las respuestas de Th1 (IFN- γ , IL-2) y Th2 (IL-4, 10) en esplenocitos de ratones inmunizados tras la estimulación con rTsNd. La vacunación de ratones con pcDNA3.1-TsNd mostró una reducción del 40,44% en los gusanos adultos y una reducción del 53,9% en la carga larvaria (64).

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

El sitio del NCBI, conformado por un amplio y diverso banco de bases de datos, herramientas y otros medios, posibilita la exploración integral de sus recursos mediante un sistema de recuperación de interfaz único denominado Entrez, The Life Sciences Search Engine. Por la vía de Entrez, es posible acceder, tanto a las principales bases de datos de secuencias de proteínas y ADN disponibles como Nucleotide, dbSNP, Proteins, PubChem Substance, Gene, entre otras como a una gran parte de la mejor literatura biomédica mundial procesada por bases como PubMed-Medline (65).

El NCBI agrupa sus bases de datos esenciales en tres grandes sectores: Literature Databases, Molecular Databases y Genomes. Estas dos últimas clases comprenden un grupo amplio y diverso de bases de datos biológicas cuya información procede básicamente de los resultados de experimentos científicos, suministrados directamente por los laboratorios o instituciones que los realizan o publicados en la literatura científica especializada, donde con frecuencia se aplican tecnologías de experimentación de muy alto rendimiento y el análisis computacional. La información contenida en estas bases de datos comprende: funciones, estructura y localización (tanto celular como cromosómica) de los genes, los efectos clínicos de las mutaciones, así como las similitudes entre secuencias y estructuras biológicas (66).

7.12.1. Responsabilidades del NCBI.

- Realiza investigaciones sobre problemas biomédicos fundamentales a nivel molecular utilizando métodos matemáticos y computacionales.
- Mantiene colaboraciones con varios institutos NIH, academia, industria y otras agencias gubernamentales.
- Fomenta la comunicación científica patrocinando reuniones, talleres y series de conferencias.
- Apoya la capacitación en investigación básica y aplicada en biología computacional para becarios posdoctorales a través del Programa de Investigación Intramural de NIH.
- Involucra a miembros de la comunidad científica internacional en investigación y capacitación en informática a través del Programa de Visitantes Científicos.
- Desarrolla, distribuye, respalda y coordina el acceso a una variedad de bases de datos y software para las comunidades médicas y científicas.
- Desarrolla y promueve estándares para bases de datos, depósito e intercambio de datos y nomenclatura biológica (66).

8. PREGUNTAS CIENTIFICAS.

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

ESPECIE ANIMAL	PARÁSITOS NEMATODOS
Caninos	<i>Toxocara canis, Trichinella spiralis, Dirofilaria immitis.</i>
Felinos	<i>Toxocara cati, Trichinella spiralis, Dirofilaria immitis.</i>
Bovinos	<i>Haemonchus contortus, Trichostrongylus axei, Cooperia oncophora.</i>
Porcinos	<i>Trichinella spiralis, Trichuris suis, Metastrongylus pudendotectus.</i>
Equinos	<i>Trichostrongylus axei.</i>
Caprinos	<i>Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Trichostrongylus axei, Chabertia ovina.</i>
Ovinos	<i>Haemonchus contortus, Teladorsagia circumcincta, Marshallagia marshalli, Cooperia oncophora, Trichostrongylus axei, Chabertia ovina.</i>
Aves	<i>Heterakis gallinarum, Ascaridia galli.</i>
Camélidos Sudamericanos	<i>Teladorsagia circumcincta.</i>

- **¿Cuáles son los genes relacionados con la inmunidad de los parásitos (Nematodos) de diferentes especies animales en la base de datos de la secuencia codificante?**

Se puede mencionar los siguientes genes que están relacionados con la respuesta inmunitaria a parásitos nematodos: Caninos: IFN- γ (Interferón Gama), IL-10 (Interleucina 10); Felinos: IFN- γ e IL-10; Bovinos: TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa). Porcinos: TNF- α ; Equinos: TNF- α , IFN- γ , IL-5 e IL-13; Ovinos: TNF- α e IFN- γ ; Caprinos: TNF- α e IFN- γ ; Aves (Gallina, pato, ganso y pavo): IFN- γ ; Camélidos Sudamericanos: IFN- γ , por la constancia de estos genes al momento de actuar ante la presencia de los parásitos Nematodos en cada especie animal.

- **¿Cómo se relaciona las secuencias codificantes de los genes de los parásitos (Nematodos) con la repuesta inmunitaria?**

A través del análisis realizado se ha determinado que las regiones promotoras de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a parásitos nematodos son: Caninos: exón 3 y 4 de IFN- γ , exón 1 y 5 de IL-10; Felinos: exón 2 de IFN- γ ; Porcino: intrón 1 de TNF- α ;

Equino: exón 1 de TNF- α y exón 4 de IFN- γ ; Ovino: intrón 1 y 3 de IFN- γ ; Caprino: intrón 1 de IFN- γ ; Aves (Gallina y Patos): exón 4 de IFN- γ en gallinas y exón 5 de IFN- γ en patos, por dar una respuesta inmunitaria ante la presencia de los parásitos Nematodos en cada especie animal y contribuir a la eliminación de los parásitos, evitar su replicación y favorecer la resistencia al desarrollo de la enfermedad.

9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:

9.1. Tipo de Investigación.

Documental. Mediante esta técnica se recopiló y seleccionó la información necesaria a través de la lectura de documentos, libros físicos e electrónicas investigaciones, tesis, artículos científicos, revistas científicas, base de datos del “Centro Nacional para la Información Biotecnológica” (NCBI), los cuales son de gran aporte para la elaboración de la base de datos de las secuencias codificantes de los genes en relación a la respuesta inmunitaria de los parásitos (Nematodos) en las distintas especies animales.

9.2. Método.

Analítico. Se analizó los genes de la primera parte de la investigación sobre las secuencias genómicas, para después ser buscadas una por una en la base de datos base de datos del “Centro Nacional para la Información Biotecnológica” (NCBI) obteniendo la información respectiva de las secuencias codificantes de los genes de los parásitos (Nematodos).

9.3. Técnicas.

Ficha Bibliográfica. Este tipo de técnica se utilizó, para realizar la respectiva investigación por medio de libros, revistas electrónicas, artículos científicos, tesis doctorales de los cuales se obtuvo la información más importante para de esta manera recopilarla.

Ficha de Información Electrónica. De igual manera en este trabajo se realizó la investigación por medio de libros electrónicos, revistas académicas, de las cuales se recopiló la información necesaria para obtener información amplia sobre el tema de estudio.

10. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

10.1. Genes de Parásitos Nematodos en Caninos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en caninos, Pérez. J (67), investigó 13 genes inmunológicos en 16 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 2 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones e interleucinas. Estos genes son: IFN- γ (Interferón Gamma) y IL-10 (Interleucina 10).

El gen IFN- γ se encuentra en el cromosoma 10, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde los exones 3 y 4 están relacionados con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en *Leishmania canina* Barbosa M. (68), por la activación de macrófagos responsable de las células Th1. (**Tabla 1**). Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como interleucina (IL-12), Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), en caninos parasitados con *Leishmania infantum*. Esto al examinar los distintos tejidos de perros sintomáticos, que presentaban una expresión significativa de genes que codifican la citoquina antiinflamatoria IL-4 y las citoquinas proinflamatorias IL-12 y IFN- γ en las PBMC (Célula mononuclear de sangre periférica) de dichos perros. Esto es consistente con la coexpresión de la respuesta inmune Th1 y Th2. El otro autor Alves C. (69), detectó aumentos significativos en la expresión de ARNm de IFN- γ e IL-2 en los ganglios linfáticos de perros sintomáticos de *Leishmania infantum*, en consonancia con una respuesta inmune Th1 predominante. Por otro lado, los perros asintomáticos tuvieron aumentos significativos en el ARNm de IL-12, lo que también sugiere un predominio de citosinas asociadas con una respuesta inmune Th1. Esta citoquina juega un papel crítico en la diferenciación de células T vírgenes en células Th1 y está involucrada en el proceso inflamatorio, mediando la producción de IFN- γ que a su vez activa macrófagos y mejora su actividad microbicida. Sin embargo, el autor Manna L. (70), observó niveles altos de IL-4 y niveles más bajos de ARNm de IFN- γ en la sangre de perros sintomáticos infectados naturalmente con *Leishmania infantum*. Donde la IL-4 participa en la generación de una respuesta Th2 y en la regulación a la baja de la actividad de los macrófagos, donde la sangre puede ser permisiva para la replicación del parásito y, finalmente, su transmisión. Demostrando así que los perros infectados con *Leishmania infantum* pueden desarrollar una respuesta inmune mixta Th1 / Th2.

El siguiente gen IL-10 se encuentra en el cromosoma 7, conformado por la secuencia codificante de 5 exones (NCBI), donde los exones 1 y 5 están relacionados con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en la enfermedad periodontal canina (EP), Demodicosis canina y Leishmania canina por la activación de eosinófilos e Inmunoglobulina E (IgE), dando una respuesta humoral Th2, (**Tabla 1**). Las células Th2 son de gran importancia para en la eliminación de microorganismos extracelulares y parásitos. Albuquerque C. (71), señala que la enfermedad periodontal (EP) es una afección inflamatoria altamente prevalente que se desarrolla en los tejidos periodontales en respuesta a la biopelícula bacteriana oral, y presenta una expresión significativa del gen IL-10, la misma que juega un papel inmunomodulador central, estimulando la producción de anticuerpos protectores y regulando negativamente las citoquinas proinflamatorias. Aunque hay pocos estudios sobre este gen en enfermedades de periodontal canina, el autor Felix A. (72), demostró mediante el análisis de la cadena de ADN del gen del gen IL-10, una serie de polimorfismos (SNP) en el exón 1 y 5, que inducen concentraciones elevadas de IgE en suero, dando una respuesta inmunitaria Th2 que favorece a la eliminación de los microorganismo y a neutralizar sus toxinas, evidenciadas en perros con sepsis causada por bacterias gramnegativas, además de otras enfermedades caninas como, demodicosis, y leishmaniasis. Sin embargo, los autores Clements D. (73) y Ollier W. (74), encontraron varios SNP en las distintas regiones del gen IL10 que estaban asociados a la susceptibilidad de la diabetes mellitus en la raza de perro Cavalier King Charles Spaniel. Por lo que los polimorfismos que se encuentran en las secuencias codificantes puede presentar variaciones que influirá en el papel regulador del IL-10 y, en consecuencia, la susceptibilidad a la EP. Por lo que es necesario realizar más estudios sobre este gen y reconocer cuales son las causas del polimorfismo constante que presenta dicho gen.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen IFN- γ es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada en los exones 3 y 4 por la activación de macrófagos que en altas cantidades contribuye a la eliminación de los parásitos, evita su replicación y favorece la resistencia al desarrollo de la enfermedad. Y los exones 1 y 5 del IL-10 por la activación de eosinófilos e IgE que en altas cantidades favorece a la eliminación del microorganismo y a neutralizar sus toxinas, por lo tanto, sería factible enfocarse en estos genes para la realización respectiva de la vacuna.

Tabla 1. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Caninos.

Especie animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	Nº exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
CANINO	IFN- γ (403801)	Cromosoma: 10 Localización: (10406866..10411698)	cuatro	Exón 3	234	CCAGATCATTCAAAG [G] AGCATGGATAACCAT	Activa macrófagos mediada por células Th1	Leishmania canina	Barbosa M., 2011;
				Exón 4	415	TCATCAAAGTGATGA [A] TGATCTCTCACCAA			Nacimento M.,2015
	IL-10 (403628)	Cromosoma: 7 Localización: (5933285..5937057)	cinco	Exón 1	148	CTTCCCAGCCAGCCT [G] CCCCACATGCTCCG	IgE, eosinófilos, respuesta Th2	Enfermedad periodontal (EP)	Albuquerque C., 2014
Exón 5	505	TCAACTACATAGAAA [C] CTACATGACAATGA	Demodicosis canina	Felix A., 2013					
								Leishmania canina	

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.2. Genes de Parásitos Nematodos en Felinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en felinos, Pérez. J (67), investigó 11 genes inmunológicos en 14 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 2 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones e interleucinas. Estos genes son: IFN- γ (Interferón Gamma) y IL-10 (Interleucina 10).

El gen IFN- γ se encuentra en el cromosoma B4, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 2 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en Peritonitis Infecciosa Felina (FIP) Wang Y. (75), por la activación de macrófagos responsable de las células Th1. **(Tabla 2)**. Las células Th1 inducen la producción de citosinas como interleucina (IL-2) e Interferón Gamma (IFN- γ) en caninos infectados con *Coronavirus Felino (FCoV)*. El autor Gunn D. (76), señala que a medida avanza la enfermedad de FIP, aumenta la producción de IL-6 y posiblemente IL-4 que son citosinas típicas Th2 y se reduce la producción de IL-2 e IFN- γ produciendo una disminución de la CMI (inmunidad mediada por células) protectora asociada a Th1 y un aumento de las respuestas de anticuerpos no protectores asociados a Th2 ocasionando la proliferación del virus. Sin embargo el autor Weiss E. (77) observó niveles elevados de leucotrieno B4 (LTB4) y prostaglandina E2 (PGE2) en plasma de gatos asociados con la FIP clínica. Donde señala que la PGE2 favorece el desarrollo de una respuesta Th2, aumentando la producción de IL-6 e IL-10 e inhibiendo la producción de citosinas Th1 como IL-2 de células dendríticas e IFN- γ de células T. Si bien, en conjunto, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la FIP es una enfermedad que da una respuesta inmunitaria Th2, otros estudios están en desacuerdo con esta conclusión uno de ellos es del autor Hsieh L. (78), quien demostró que este gen desempeña un papel protector en la patogenia de la FIP, ya que es una citosina clave en la CMI, y la disminución de IFN- γ se debe a la presencia de polimorfismos (SNP) que presentan los gatos con FIP. Esto al secuenciar el ADN de 40 gatos enfermos, identificando más de 19 polimorfismos distribuidos en todo el gen, donde el intrón 1 es el más polimórfico mientras que en el exón 2 no se encontró ningún polimorfismo, por tal motivo lo considera como un factor principal para potenciar la producción de IFN- γ tras infecciones de patógenos intracelulares.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen IFN- γ es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada en el exón 2 por la activación de macrófagos que en altas cantidades contribuye a la eliminación de los parásitos, evita su replicación y favorece la resistencia al desarrollo de la enfermedad, por lo tanto, sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que para el gen IL-10 no se han reportados estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria (NCBI), por tal motivo queda como constancia este gen para la realización de las primeras investigaciones y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

Tabla 2. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Felinos.

Especie animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	N° exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
FELINO	IFN- γ (493965)	Cromosoma: B4 Localización: (95329479..95334070)	Cuatro	Exón 2	1390	ATATTTTAATGCAAG [T] AATCCAGATGTAGC	Activa macrófagos mediada por células Th1	Peritonitis Infecciosa Felina (FIP) Coronavirus Felino (FCoV)	Wang Y., 2018

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.3. Genes de Parásitos Nematodos en Bovinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en bovinos, Pérez. J (67), investigó 9 genes inmunológicos en 30 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 1 de estos genes como candidato para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de citosinas que son liberadas por células del sistema inmunitario. Este gen es: TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa).

El gen TNF- α se encuentra en el cromosoma 23, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 4 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en Leucosis Bovina enzoótica (LLE). Nosowicz B. (79), por la activación de macrófagos y neutrófilos responsable de las células Th1. **(Tabla 3)**. Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como interleucina (IL-12), Interferón Gamma (IFN- γ), y polimorfismos en los alelos del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), en bovinos infectados con *Virus de la Leucemia Bovina (BLV)*. Esto al examinar la cadena de ADN del gen TNF- α , donde demostró que SNP (polimorfismo de nucleótido único) en la posición -824 A>G del TNF- α puede desempeñar un papel importante en la patogenia de la leucosis bovina enzoótica (LLE). La enfermedad altera la proliferación y diferenciación de los linfocitos B. La mayoría de los bovinos infectados con BLV permanecen en estadio subclínico. El autor Konnai S. (80) cree que, de manera similar a los humanos, la variabilidad intraindividual en las respuestas inmunitarias a los retrovirales las infecciones en el ganado pueden ser causadas por SNP en la región de los genes codificadores de citosinas. Donde señala que los SNP en la región promotora de la posición -824 del TNF- α afectaba la producción de IL-8 e IL-1 β en PBMC (Célula mononuclear de sangre periférica). Por lo que el autor Brännström M. (81), afirma que la MAPK14 (proteína quinasa 14 activada por mitógenos) participa en la regulación postranscripcional de la expresión de genes inflamatorios como la expresión de IL-8 e IL-1 β en el cromosoma 23, en el que también se localiza el gen TNF- α . Generalmente, existe un vínculo genético por el cual una mutación genética (SNP) influye en la expresión de otros genes. Por tanto, MAPK14 inducida por un enlace genético de SNP en la región promotora de TNF- α puede estar implicada en el aumento de la producción de IL-8 e IL-1 β en PBMC, que inducen la infiltración de neutrófilos y macrófagos dando una respuesta inmunitaria Th1. Aunque no hay estudios que detallen los mecanismos involucrados del gen TNF- α que promueve las infecciones por BLV y contribuya a la diseminación viral. Hay otros estudios donde el autor Kawasaki Y (82), señala que los SNP dentro de la

región promotora de la posición -195 del TNF- α puede vincular el desempeño reproductivo y la inmunidad en el ganado lechero. Esto al examinar el ADN genómico extraído de la sangre de 130 vacas raza Holstein en estado ovulatoria e anovulatoria, mediante la reacción en cadena de Polimerasa (PCR), donde determino que los animales con el genotipo A/A en el promotor de TNF- α y el genotipo T/T de los 3 exones del TNF- α pueden tener un rendimiento reproductivo bajo en comparación con otros genotipos y que pueden tener un desarrollo folicular defectuoso después del parto, mientras que los genotipos del exón 4 presento bajo porcentaje de polimorfismos a diferencia de los otros exones, por lo que aún no se define si los SNP de este exón se relacionan con la patogénesis o contrarresta las infecciones de las enfermedades reproductivas y Leucosis Bovina Enzoótica (LLE).

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen TNF- α no es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, porque sus exones atribuyen un papel central en la patogenia de diversas enfermedades, esto como consecuencia de los SNP dentro de la región promotora que afectan la regulación transcripcional y la expresión génica, por lo tanto, no sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

Tabla 3. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Bovinos.

Espece animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	Nº exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
BOVINO	TNF- α (280943)	Cromosoma: 23 Localización: (27,716,170...27,718,787)	Cuatro	Exón 4	-195	ACTGCAGGTTGCTCC [C] ACCATGCCTCCTCG	Activa neutrófilos y macrófagos	Rendimiento reproductivo y la función inmune en el ganado lechero	Kawasaki Y.,2014
					-824	CCGAGTCTGGGCAGG [T] CTACTTTGGGATCA	Citosinas inflamatorias IgM	Virus de la Leucemia Bovina (BLV)	Nosowicz B., 2015

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.4. Genes de Parásitos Nematodos en Porcinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en porcinos, Pérez. J (67), investigó 11 genes inmunológicos en 21 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 1 de estos genes como candidato para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de citosinas que son liberadas por células del sistema inmunitario. Este gen es: TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa).

El gen TNF- α se encuentra en el cromosoma 7, conformado por la secuencia codificante de 4 exones y 3 intrones (NCBI), donde el intrón 1 en la posición -791 del gen está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) F18 Ying W. (83), por la activación de Macrófagos, monocitos y linfocitos, estimula a las células T para que liberen citosinas (**Tabla 4**), como interleucinas (IL-2), Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), en porcinos infectados con *Escherichia coli* enterotoxigénica F18. Esto al examinar la expresión de ARNm del TNF- α en 11 tejidos (corazón, hígado, bazo, pulmón, riñón, estómago, músculo, timo, ganglio linfático, duodeno y yeyuno) en 8 lechones resistentes a *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) F18 y 8 lechones susceptibles a ETEC F18 de la raza Large White. Se utilizó la técnica de polimorfismo de conformación monocatenario de reacción en cadena de la polimerasa (PCR-SSCP), identificando una mutación en la región -791 (C \rightarrow T) del gen TNF- α , la misma que contribuye niveles altos de expresión de TNF- α en el tejido intestinal (duodeno) y tejidos inmunes (bazo y ganglios linfáticos) a diferencia de otras regiones codificantes, por lo tanto, este polimorfismo -791, podría jugar un papel importante en conferir resistencia a ETEC F18 y considerarse como un marcador genético potencial para la prevención de ETEC F18 en lechones de la raza Large White. A pesar que hay estudios donde el autor Raz E (84), demostró que el gen TNF- α desempeña un papel importante en la patogenia de varias enfermedades. Sin embargo, el autor Chen D. (85), señala que el TNF- α es una citocina que desempeña funciones opuestas en el contexto de la patogenia de las enfermedades infecciosas. Muchos estudios han encontrado que la expresión regulada por incremento del TNF- α contribuye a la mejora de la respuesta inmune y la resistencia a la infección en cerdos.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen TNF- α es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada por la mutación de la región

-791 con la activación de macrófagos, monocitos y linfocitos, ocasionando resistencia ante diferentes infecciones en cerdos, por lo tanto, sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

Tabla 4. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Porcinos.

Especie animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	Nº Exón/ Intrón	Exón/ Intrón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
PORCINO	TNF- α (397086)	Cromosoma: 7 Localización: (23699635..23702393)	Cuatro Tres	Intrón 1	-791	CCCCCAGAAGGA AGA [..] GTTTCCAGCTGG CCC	Macrófagos, monocitos y linfocitos, estimula a las células T para que liberen citosinas	Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC) F18	Ying W., 2016; Chen D., 2019

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.5. Genes de Parásitos Nematodos en Equinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en equinos, Pérez. J (67), investigó 5 genes inmunológicos en 21 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 4 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de citosinas que son liberadas por células del sistema inmunitario, y polimorfismos en los alelos. Estos genes son: TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa), IFN- γ (Interferón Gamma) IL-5 y IL-13 (Interleucina 5 y 13).

El gen TNF- α se encuentra en el cromosoma 20, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 1 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciada en la regulación autocrina del desarrollo folicular de equinos Skarzynski D (86), por la activación de neutrófilos y macrófagos por las células Th1. (**Tabla 5**). Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral (TNF), en el desarrollo folicular de equino. Esto al examinar la cadena de ADN del gen TNF- α que se extrajo de células lúteas de distintas yeguas, donde señala que la región promotora del exón 1 está asociada a la producción de diferentes células inflamatorias como: mastocitos, linfocitos y macrófagos que desempeñan un papel fundamental al momento de la luteólisis y pueden estar directamente implicados en la destrucción de las células lúteas y la subsiguiente pérdida de secreción de P4. Otro estudio por Galvao A. (87) igualmente demostró que las citosinas TNF- α , IFN- γ e ligando Fas (FASL) en la función del cuerpo lúteo equino están asociadas con la modulación de la esteroidogénesis lútea, la regulación de la dinámica vascular, la supervivencia celular y la apoptosis de las células lúteas.

El siguiente gen IFN- γ se encuentra en el cromosoma 6, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 4 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en el Virus del herpes equino tipo 1 (EHV-1) y Virus de la influenza equina (EIV). Wagner B (88), por la activación de neutrófilos y macrófagos por las células Th1 (**Tabla 5**). Esto al examinar la expresión de ARNm de IFN- γ entre PBMC (células mononucleares de sangre periférica) equinas aisladas de recién nacidos, potros y caballos adultos infectados con EHV-1, donde se encontró que varios parámetros de la respuesta inmunitaria humoral y celular de los potros estaban disminuidos en comparación con la de los caballos adultos. Demostrando que la capacidad reducida de

los recién nacidos equinos para producir IFN- γ y otras citocinas proinflamatorias aumenta su susceptibilidad a los patógenos intracelulares. El autor Mealey R. (89), señala que las células productoras de IFN- γ en potros y caballos jóvenes se encuentran células T citotóxicas CD8⁺(CTL) que están asociadas con la protección contra enfermedades. Mientras que, en los caballos de mayor edad, la respuesta de las células T específicas de EHV-1 se desplazó hacia un fenotipo CD8⁻ dando como resultado una clara disminución de los CTL específicos de EHV-1 productores de IFN- γ en caballos de edad avanzada. Por tanto, la respuesta de las células T específicas de antígeno a un patógeno específico todavía puede ser suficiente y protectora en los potros incluso si la respuesta varía cuantitativamente de los caballos adultos.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen TNF- α es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada por el exón 1 por la activación de mastocitos, linfocitos y macrófagos que desempeñan un papel fundamental en el desarrollo folicular de equinos. Al igual que el exón 4 de IFN- γ por la activación de neutrófilos y macrófagos que en altas cantidades evita la proliferación y crea una resistencia antiviral en potros y caballos jóvenes, por lo tanto, sería factible enfocarse en estos genes para la realización respectiva de la vacuna.

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que para el gen IL-5 Y IL-13 no se han reportados estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria (NCBI), por tal motivo queda como constancia estos genes para la realización de las primeras investigaciones y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

Tabla 5. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Equinos.

Espece animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	Nº exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
EQUINO	TNF α (100033834)	Cromosoma: 20 Localización: (32,223,534..32,225,423)	Cuatro	Exón 1	143	TGCCTCAGCCTCTT C [T] CCTTCCTCCTTGTC	Activa neutrófilos y macrófagos por las células Th1	Regulación autocrina y paracrina del desarrollo folicular.	Skarzynski D., 2012
	IFN- γ (100034181)	Cromosoma: 6 Localización: (84,510,150..84,513,295)	Cuatro	Exón 4	-165	CAAAGCTAACCTG AG [G] AAGCGGAAGAGGA G	Activa neutrófilos y macrófagos por las células Th1	Virus del herpes equino tipo 1 (EHV-1) y Virus de la influenza equina	Wagner B.,2010

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.6. Genes de Parásitos Nematodos en Ovinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en ovinos, Pérez. J (67), investigó 9 genes inmunológicos en 30 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 2 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones. Estos genes son: IFN- γ (Interferón Gamma) y TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa).

El gen IFN- γ se encuentra en el cromosoma 3, conformado por la secuencia codificante de 4 exones y 3 intrones (NCBI), donde el intrón 1 y 3 están relacionados con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en infecciones por *Haemonchus contortus* Dervishi E. (90) por la activación de monocitos y macrófagos responsable de las células Th1 (**Tabla 6**). Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como interleucina (IL-4), Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral (TNF), en ovinos parasitados con *Haemonchus contortus*. Esto al realizar un recuento secuencial de huevos fecales (FEC) de 400 ovejas de raza Aragonesa resistentes y susceptibles en diferentes condiciones fisiológicas. Y se encontraron más de 13 polimorfismo (SNP), donde 3 SNP se ubicaban en la región codificante del intrón 3 y 2 SNP en el intrón 1 del IFN- γ . El autor Zhou H. (91), señala que estos polimorfismos están asociados a la resistencia de nematodos gastrointestinales *Haemonchus contortus*, esto al observar la disminución de FEC, cargas de gusanos y aumento de macrófagos responsable de las células Th1 que presentaron los corderos jóvenes parasitados. Mientras que el autor Warrington E (92), señala que los SNP en las regiones del exón 2 y 3 están asociadas a la susceptibilidad de *Haemonchus contortus*, por el aumento de FEC, cargas de gusanos y disminución de la respuesta inmunitaria del IFN- γ que presentaron las ovejas adultas. Otros estudios realizados en Irlanda, Sayers G. (93), demostró que la raza Texel es más resistente a la infección de *Haemonchus contortus* que la raza Suffolks. Esto basado en mediciones de FEC, donde la raza Suffolks presentaba recuentos de huevos más altos que la raza Texel. Por lo que fue necesario realizar una secuenciación génica donde el autor Mulcahy G. (94), identifico en ovejas parasitadas con *Haemonchus contortus* de raza Suffolks la presencia de citosinas Th2 como IL-4,-5 y -10 dando una respuesta inflamatoria con la proliferación de mastocitos y eosinófilos como resultado el aumento de la producción de IgG1 e IgE. Al igual que la presencia de IFN- γ dando una respuesta Th1. Cabe mencionar que la respuesta de las células Th2 normalmente se regula al alza después de una infección parasitaria, mientras que los niveles elevados de IFN- γ comprometen la capacidad del

huésped para expulsar la infección por nematodos. Por tanto, la secreción de IFN- γ es beneficioso para la supervivencia del parásito y perjudicial para la resistencia del huésped. En cambio, las ovejas parasitadas con *Haemonchus contortus* de raza Texel, presentaron altos niveles de macrófagos en la región promotora del intrón 1 del gen IFN- γ , produciendo una resistencia a la infección por dicho nematodo. Por lo tanto, se considera que el gen IFN- γ es candidato clave para la resistencia genética a los nematodos gastrointestinales.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen IFN- γ es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada en los intrones 1 y 3, por la activación de monocitos y macrófagos que en altas cantidades contribuye a la resistencia contra diferentes infecciones gastrointestinales por nematodos, por lo tanto, sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que para el gen TNF- α no se han reportados estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria (NCBI), por tal motivo queda como constancia este gen para la realización de las primeras investigaciones y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

Tabla 6. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Ovinos.

Especie animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	N° Exón/Intrón	Exón/Intrón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
OVINO	IFN- γ (443396)	Cromosoma: 3 Localización: (162,701,025..162,705,420)	Cuatro	Intrón 1	49	CTTAGCTTTACTGCT [C] TGTGTGCTTTTGGG	Activa monocitos, macrófagos responsable de las células Th1	Resistencia a nematodos Haemonchus contortus	Dervishi E., 2011
			Tres	Intrón 3	-641	GAATGACCTGTCGCC [A] AAATCTAACCTCAG			Mulcahy G., 2005

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.7. Genes de Parásitos Nematodos en Caprinos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en caprinos, Pérez. J (67), investigó 5 genes inmunológicos en 23 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 2 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones. Estos genes son: IFN- γ (Interferón Gamma) y TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa).

El gen TNF- α se encuentra en el cromosoma 23, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 4 presenta polimorfismos que pueden estar relacionado con la respuesta inmunitaria a infecciones parasitarias en cabras. Zhao Y (95) (**Tabla 7**). Esto al examinar la diversidad de Polimorfismos (SNP) del exón 4 y 3'UTR de TNF- α en cabras domésticas chinas nativas y se identificó tres SNP en la región 3'UTR. Sin embargo, una investigación sobre las razas de cabras de América del Norte, el autor Blum J. (96), reveló que los mismos SNP analizados de TNF- α eran monomórficos y son muy parecidos a los SNP que se presentan en el gen TNF- α de bovinos como papel fundamental en mastitis aguda. Otros estudios realizados por Fumagalli M. (97), reveló una serie de polimorfismos en el gen TNF- α que demostraron tener un papel crucial en el reconocimiento de patógenos e influir en procesos inmunológicos adicionales y, por lo tanto, jugar un papel importante en las infecciones. Sin embargo, hasta la fecha, la importancia total de estas variaciones de SNP en TNF- α no está clara y, por lo tanto, es necesario realizar más estudios que ayuden a una mayor comprensión del mecanismo que se presenta en exón 4 del gen TNF- α ante la infección por parásitos en las diferentes razas de cabras.

El siguiente gen IFN- γ se encuentra en el cromosoma 5, conformado por la secuencia codificante de 4 exones y 3 intrones (NCBI), donde el intrón 1 de la posición -498 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciadas en infecciones por Virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV LTR) y Ectima contagioso (Virus Orf) Thao W. (98) por la activación de monocitos y macrófagos responsable de las células Th1 (**Tabla 7**). Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como Interferón Gamma (IFN- γ), y Factor de necrosis tumoral (TNF), en caprinos infectados con *Virus Orf*. Esto al examinar la expresión de ARNm del IFN- γ en tejidos labiales de cabras infectadas por el virus Orf. Mediante la técnica de polimorfismo de conformación monocatenario de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y se identificó un Polimorfismo (SNP) en la

región -498 del gen IFN- γ , el mismo que contribuye niveles altos de expresión de IFN- γ con la activación de macrófagos detectados en el tejido labial de corderos después de la infección con el *Virus Orf*. Por lo tanto, El autor Friebe A. (99), consideró que este polimorfismo del gen IFN- γ desempeña un papel destacado en las respuestas inmunitarias del huésped a diferencia de otras regiones codificantes. Por lo que recomienda que el SNP del IFN- γ se lo puede utilizar como un indicador importante de inmunidad para reflejar el estado inmunológico del animal y controlan la gravedad de la enfermedad.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen IFN- γ es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada por la región codificante de la posición -498 por la activación de monocitos y macrófagos que en altas cantidades evita la proliferación y crea una resistencia antiviral, por lo tanto, sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que el gen TNF- α no es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, porque los pocos estudios realizados demuestran que sus exones atribuyen un papel central en la patogenia de diversas enfermedades, por lo que es necesario realizar más estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria de este gen y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

Tabla 7. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Caprinos.

Especie animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	Nº Exón/ Intrón	Exón/Intrón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
	TNF α (100861232)	Cromosoma: 23 Localización: (22,245,930..22,248,693)	Cuatro	Exón 4	273	AGCCAACATCA GCGC [T] CCGGGGCAGCT CCG		Análisis de Polimorfismos en el gen	Zhao Y., 2015
CAPRINO									
	IFN- γ (100860815)	Cromosoma: 5 Localización: (44,984,285..44,988,400)	Cuatro Tres	Intrón 1	-498	GGGGATCCACC ATGA [R] AATACACAAGC TCCT	Activa monocitos y macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV LTR)-Ectima contagioso (Virus Orf)	Tao W., 2019; Beyer J.,1998

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.8. Genes de Parásitos Nematodos en Aves.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en gallinas, Pérez. J (67), investigó 3 genes inmunológicos en 8 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 1 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones. (**Tabla 8**). En los patos investigó 3 genes inmunológicos en 5 parásitos nematodos, de aquellos consideró a 1 de estos genes como candidatos para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones. (**Tabla 9**). Este gen es: IFN- γ (Interferón Gamma).

El gen IFN- γ de Gallinas se encuentra en el cromosoma 1, conformado por la secuencia codificante de 4 exones (NCBI), donde el exón 4 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciada en la enfermedad de Marek (MD) y Bronquitis Infecciosa (IBV) Haq K. (100) por la activación de macrófagos responsable de las células Th1. Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral (TNF), en gallinas infectadas con virus de la enfermedad de Marek (MDV). Esto al examinar la cadena de ADN del gen IFN- γ , donde demostró que el exón 4 activa macrófagos, neutraliza la replicación viral y mejora la expresión del antígeno del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase II. Por lo tanto, la expresión de IFN- γ puede desempeñar un papel importante en la inmunidad contra el virus, y puede incluirse en vacunas para mejorar la inmunogenicidad y eficacia. Un estudio reciente por el autor Shah M. (101), mostró que una vacuna de ADN en combinación con el plásmido codificado por IFN- γ de pollos (ChIFN- γ) protegía a las aves de la coccidiosis, que se caracterizó por la prevención de la pérdida de peso y la excreción de oocistos.

El gen IFN- γ de Patos se encuentra en el cromosoma 1, conformado por la secuencia codificante de 6 exones (NCBI), donde el exón 5 está relacionado con la respuesta inmunitaria, evidenciada en el Virus de la hepatitis B del pato (DHBV) Chisari F. (102) por la activación de macrófagos responsable de las células Th1. Las células T. Helper 1 (Th1) inducen la producción de citosinas como Interferón Gamma (IFN- γ), y factor de necrosis tumoral (TNF), en patos infectados con Virus de la hepatitis B del pato (DHBV). Esto al examinar la cadena de ADN del gen IFN- γ , donde señala que el exón 5 podría unirse directamente al hepatocito e inducir genes celulares que interfieren con la

replicación viral o podría estimular células no parenquimatosas como macrófagos que contaminan los cultivos primarios de hepatocitos de pato, para secretar productos antivirales que son responsables del efecto. Sin embargo, el autor Rollier C. (103), ha demostrado la eficacia con la que bajas concentraciones de IFN- γ , pueden inhibir la infección productiva de los hepatocitos por el DHBV. Por lo tanto, sugiere que esta citosina podría modular el ciclo de vida del DHBV en el animal infectado.

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen IFN- γ es candidato perfecto para la elaboración de la Vacuna de ADN, su influencia está dada por el exón 4 del IFN- γ en gallinas y el exón 5 del IFN- γ en patos, por la activación de macrófagos que en altas cantidades evita la proliferación y crea una resistencia antiviral, por lo tanto, sería factible enfocarse en este gen para la realización respectiva de la vacuna.

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que para el gen IFN- γ en pavos y gansos no se han reportados estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria (NCBI), por tal motivo queda como constancia este gen para la realización de las primeras investigaciones y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

Tabla 8. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Gallinas

Espece animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	N° exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
GALLINA	IFN- γ (396054)	Cromosoma: 1 Localización: (35.173.604..35.177.751)	Cuatro	Exón 4	-855	TTCAGCATCTTACAG [A] AGCTGGTGGATCCT	Activa macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la enfermedad de Marek (MDV). Bronquitis infecciosa IBV.	Haq K., 2011 Shah M., 2010

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

Tabla 9. Genes inmunológicos de parásitos Nematodos en Patos

Espece animal	Gen / ID	Localización / # cromosoma	N° exones	Exón relacionado con la inmunidad	Posición	Secuencia de ARNm	Inmunidad	Patologías con la cual se evidencio	Referencia
PATOS	IFN- γ (101790439)	Cromosoma: 1 Localización: (37,182,316..37,194,448)	Seis	Exón 5	-602	AGCTCTAAGCATATC [T] AAATCCAAATCAAG	Activa macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la hepatitis B del pato (DHBV)	Chisari F.,1999 Rollier C., 2000

Fuente: Directa

Elaboración: Vásquez Daniela, 2021

10.9. Genes de Parásitos Nematodos en Camélidos Sudamericanos.

Dentro de los principales genes relacionados con la inmunidad de parásitos nematodos en camélidos sudamericanos, Pérez. J (67), investigó 1 gen inmunológico en 16 parásitos nematodos, de aquellos consideró a este único gen como candidato para la producción de la vacuna de ADN debido a su influencia dada por la secreción de interferones. Este gen es: IFN- γ (Interferón Gamma).

A través de la investigación realizada, se puede mencionar que para el gen IFN- γ no se han reportados estudios de las secuencias codificantes relacionados con la respuesta inmunitaria (NCBI), por tal motivo queda como constancia este gen para la realización de las primeras investigaciones y posteriormente contribuir con la información necesaria para la elaboración de las vacunas de ADN.

11. IMPACTOS.

El impacto de esta investigación sobre el análisis de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria a los parásitos Nematodos, es de tipo técnico, porque a través de la revisión bibliográfica se obtuvo la información necesaria para realizar la base de datos que permitirá realizar numerosos avances en el ámbito genético, una de ellas es comprender las complejas interacciones entre huésped y parásito, que contribuye a los Biotecnólogos para la elaboración de la vacuna de ADN con la utilización de la bioinformática y equipos tecnológicos de alta calidad logrando así obtener una vacuna que genere inmunidad ante las enfermedades producidas por parásitos Nematodos en las distintas especies animales.

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

12.1. Conclusiones.

- De acuerdo con el análisis realizado de las secuencias codificantes de los genes relacionados con la inmunidad de los parásitos nematodos en las diferentes especies animales, se ha determinado que las regiones promotoras de los genes de interés son: Caninos: exón 3 y 4 de IFN- γ , exón 1 y 5 de IL-10; Felinos: exón 2 de IFN- γ ; Porcino: intrón 1 de TNF- α ; Equino: exón 1 de TNF- α y exón 4 de IFN- γ ; Ovino: intrón 1 y 3 de IFN- γ ; Caprino: intrón 1 de IFN- γ ; Aves (Gallina y Patos): exón 4 de IFN- γ en gallinas y exón 5 de IFN- γ en patos, por dar una respuesta inmunitaria ante la presencia de los parásitos Nematodos en cada especie animal y contribuir a la eliminación de los parásitos, evitar su replicación y favorecer la resistencia al desarrollo de la enfermedad. Por lo tanto,

son candidatos indicados para la elaboración de la vacuna de ADN y así poder crear inmunidad en las distintas especies animales.

- Por medio de la investigación realizada de las secuencias codificantes de los genes inmunológicos de los parásitos Nematodos y posteriormente confirmada su validez en la base de datos del “Centro Nacional para la Información Biotecnológica” (NCBI), se recopiló esta información para ser anexada y distribuida de acuerdo a la especie animal en la base de datos de los parásitos Nematodos que fue elaborada.
- Con la recopilación necesaria de información sobre las secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos Nematodos en las distintas especies animales, se generó una base de datos distribuida por: especie animal, gen y su ID en el (NCBI), localización, cromosoma, número de exones, exones relacionados con la respuesta inmunitaria, secuencia de ARNm, inmunidad, patologías donde se evidencio, referencia. Dicha información contribuye a los Biotecnólogos, a la elaboración de las respectivas vacunas de ADN, además de realizar las primer investigaciones en los genes de los parásitos Nematodos que aún no han sido identificados sus secuencias codificantes en relación con la inmunidad.

12.2. Recomendaciones.

- Continuar con las investigaciones del genoma de los parásitos Nematodos que aún carecen de información necesaria como sus genes y regiones promotoras de inmunidad, para facilitar la elaboración de las vacunas de ADN, y así controlar la incidencia de las enfermedades parasitarias y reducir el uso excesivo de desparasitantes en las distintas especies animales.
- Con la información obtenida de las secuencia genómica y secuencias codificantes de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos Nematodos, continuar con las investigaciones necesarias con el fin de estandarizar y validar la técnica de inmunización por vacunas de ADN en las distintas especies animales ante las enfermedades de dichos parásitos.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Bornacello A, Caraballo L. Hallazgos recientes sobre la estructura y función del gen. *Medica Sanitas*. 2010 Junio 1; 13(2): p. 36-45.
2. Hernandez J. Interacción parásito- hospedador entre nematodos gastrointestinales y razas bovinas canarias. Papel de los linfocitos T y los eosinófilos. [Online].; 2015 [cited 2020 Noviembre 14]. Available from: https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/17456/4/0724559_00000_0000.pdf.
3. Ramón G. Prevalencia de Helminthos Gastrointestinales (Céstodos y Nematodos) en caninos de la ciudad de Cuenca”. Tesis. Cuenca: Universidad de Cuenca, Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2015.
4. Zapata R, Velasquez R, Herrera L, Rios L, Polanco D. Prevalencia de Nematodos Gastrointestinales en Sistemas de Producción Ovina y Caprina bajo Confinamiento, Semi confinamiento y Pastoreo en Municipios de Antioquia, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2016 Junio; 27(2).
5. (CAV-AEP) CAAdV. Manual de vacunas en línea de la AEP. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <https://vacunasaep.org/printpdf/documentos/manual/cap-1>.
6. Gasteiz V. Evolucion Continua de las vacunas. [Online].; 2013 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <http://www.socinorte.com/wp-content/uploads/2013/12/Conceptos-Basicos-y-Generalidades-de-las-vacunas.pdf>.
7. Prevention CfDCa. Cómo funcionan las Vacunas. [Online].; 2013 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <http://www.salud.gov.pr/Dept-de-Salud/Documents/Division%20de%20Inmunizacion/Como%20Funcionan%20Las%20Vacunas.pdf>.
8. Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. *Vaccine*. 2001 Marzo 21; 19(17): p. 2688 - 2691.
9. Lesk A. Introduction to Bioinformatics. Cuarta ed. New York: British Library; 2008.
10. Ferreira J, Porco A. Vacunas derivadas del análisis de los genomas: vacunología inversa. *INCI*. 2008 Mayo; 33(5).
11. Schwarzbach V. VACUNOLOGÍA INVERSA: UNA NUEVA ESTRATEGIA EN VACUNAS. [Online].; 2017 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <https://www.stamboulia.com.ar/novedades/vacunologia-inversa-una-nueva-estrategia-vacunas/>.
12. Martínez B. La bioinformática como herramienta para la investigación en salud humana. *Instituto Nacional de Salud Pública*. 2007; 49: p. 64-66.
13. Cañedo Andalia R, Arencibia RJ. Bioinformática: en busca de los secretos moleculares de la vida. *BIOMEDICINA*. 2004; 12(6).

14. Srivastava IK, Liu MA. Gene Vaccines. *Annals of Internal Medicine*. 2013 Abril 23; 13(8): p. 550-559.
15. Donnelly J, Ulmer , Shiver , Liu. DNA vaccines. *Annu Rev Immunol*. 1997; 15(6): p. 17-48.
16. Liu M. DNA vaccines: a review. *Internal Medicine*. 2003 Marzo 23; 253: p. 402-410.
17. Aguilar Setién Á, Tesoro,Cruz , Salas,Rojas , AlonsoMorales , Blanco,Favela. Las vacunas génicas (ADN): ¿Pueden sustituir a las convencionales para el control de la rabia? *Bioquímica*. 2008 Diciembre; 33(4): p. 147-154.
18. Pardoll , Beckerleg. Exposing the immunology of naked DNA vaccines. *Immunity*. 1995 Agosto 3; 3: p. 165-169.
19. Kowalczyk D. Immune responses to DNA vaccines. *Cell Mol Life Sci*. 2000 May; 55(5): p. 70-75.
20. Salleras L. Tecnologías de producción de vacunas (III). *Vacunas génicas. Vacunas*. 2002; 3(14): p. 5-9.
21. Hasan A, Abai AM, Harper DR, Wren BW, Morrow WJ. Nucleic acid immunization: concepts and techniques associated with third generation vaccines. *J Immunol Methods*. 2000 Octubre 29; 229(2): p. 1-22.
22. Calcaterra N. *Ciencias Naturales. Los Genes*. [Online].; 2002 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: <http://www.bnm.me.gov.ar/giga1/documentos/EL002318.pdf>.
23. Sobrarbe. *La revolución Genética*. [Online].; 2012 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: <https://cienciassobrarbe.files.wordpress.com/2012/05/revolucic3b3n-genc3a9tica.pdf>.
24. Soberón X, Zapata B. *Gen y Genoma*. Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades. 1999.
25. IGEN. Protein coding sequences. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 14. Available from: https://parts.igem.org/Protein_coding_sequences.
26. Bornacelli A. Hallazgos recientes sobre la estructura y función del gen. *Unisanitas*. 2010; 13(5).
27. Das L, Das J, Nanda S, Mohapatra S. Coding Sequence Prediction: A Review. In *International Conference on Applied Electromagnetics, Signal Processing and Communication (AESPC)*; 2018; Odisha.
28. Lisker. *Introducción a la genética humana*. Tercera ed. Mexico: El manual Moderno; 2013.
29. Mardarás , Corbacho VV, Galotti LD. *DEL GEN A LA PROTEÍNA*. Primera ed. Buenos

Aires; 2012.

30. Nussbaum R, McInnes R, Willard H. Genética en Medicina. Séptima ed.; 2005.
31. ChileBIO. La Estructura del ADN, los genes y el código genético. [Online].; 2018 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <https://www.chilebio.cl/el-adn-los-genes-y-el-codigo-genetico/>.
32. Finegold N. Genes y cromosomas. [Online].; 2019 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/fundamentos/gen%C3%A9tica/genes-y-cromosomas>.
33. Lewin. Genes IX. Novena ed. México: Mc Graw Hill; 2008.
34. Estévez Ramírez. Código genético y síntesis de proteínas. [Online].; 2015 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <https://kevestevezunah.wordpress.com/codigo-genetico-y-sintesis-de-proteinas/>.
35. Tizard I, Gomez L. Inmunología Veterinaria. Octava ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
36. Esperanza Gomez L, Blanco Gutierrez MdM, Domenech Gomez AM. Manual de inmunología veterinaria. Primera ed. Madrid: Pearson Prentice Hall; 2007.
37. Camacho N. Sistema inmune y genética: un abordaje diferente a la diversidad de anticuerpos. Acta Biologica Colombiana. 2011; 16(3): p. 177-187.
38. James M K. Inmunología, biología molecular y la enfermedad. Clínica Las Condes. 2007 Agosto 3; 18(2): p. 287-297.
39. Ibañez E. CURSO DE INMUNOLOGIA GENERAL: 8. Complejo principal de histocompatibilidad. [Online].; 2000 [cited 2020 Noviembre 15]. Available from: https://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_08.htm#:~:text=del%20linfocito%20T.,8.4%20MOL%C3%89CULAS%20Y%20GENES%20DEL%20MHC%20DE%20CLASE%20II,a%20los%20linfocitos%20T%20CD4%20B.
40. Kindt T, Goldsby R, Osborne B, Kuby J, Palacios R. Inmunología de Kuby. Sexta ed. México: McGraw-Hill Interamerica; 2007.
41. Gasparino A. Factor de necrosis tumoral alfa, necesidad de equilibrio. [Online].; 2017 [cited 2020 Noviembre 16]. Available from: <https://www.misistemainmune.es/factor-de-necrosis-tumoral-alfa-necesidad-de-equilibrio/>.
42. PEPROTech. Recombinant Human TNF-β. [Online].; 2018 [cited 2020 Noviembre 16]. Available from: <https://www.peprotech.com/es/recombinant-human-tnf-2>.
43. Michitomo S, Kyosuke H, Kensuke K, Ryohei K, Takashi A. TGF-β type I receptor kinase inhibitor down-regulates rheumatoid synoviocytes and prevents the arthritis induced by type II collagen antibody. International Immunology. 2007 Febrero; 19(2): p. 117-126.

44. Espinoza D, Hernandez R. Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. *investigacion Clinica*. 2008 Octubre; 60(5): p. 421-431.
45. Preedy V, Patel V. *General Methods in Biomarker Research and Their Applications*. Springer. 2015.
46. Tobón J. Interleuquina 1 beta: ¿Cuál es su función en la inmunidad? [Online].; 2016 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://www.misistemainmune.es/interleuquina-1-beta-cual-es-su-funcion-en-la-inmunidad/>.
47. Gallart M. Interleuquinas y su papel en las respuestas inmunes de los animales. [Online].; 2013 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136632.pdf>.
48. Lopez Bravo M. INTERLEUQUINA 4 (IL-4) ¿QUÉ HAY QUE SABER SOBRE ELLA? [Online].; 2019 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://www.misistemainmune.es/interleuquina-4-il-4-que-hay-que-saber-sobre-ella/>.
49. Cun. Es. Interleuquina 5. *Diccionario Medico*. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/interleuquina-5>.
50. Montero MR. Il 5 y 6. [Online].; 2012 [cited 2020 Noviembre 16. Available from: <https://es.slideshare.net/roosemontero/il-5-y-6>.
51. Fonseca Camarillo G, Furuzawa J, Martínez B, Barreto R, Yamamoto K. Expresión de la interleucina (IL-10) con función inmunorreguladora en mucosa de pacientes con colitis ulcerosa crónica idiopática. *Gastroenterología de Mexico*. 2011 Abril; 76(1): p. 113-119.
52. Sánchez de la Rosa , Sánchez de la Rosa. Interleucina-12: Enfermedades infecciosas. *Cubana de Medicina*. 2011 Junio; 40(2).
53. Barros de Oliveira CM, Kimiko Sakata R, Machado Issy , Gerola LR, Salomão. Citocinas y Dolor. *Bras Anestesiol*. 2011 Abril; 61(2): p. 137-142.
54. Iáñez Pareja. CURSO DE INMUNOLOGÍA GENERAL: 5. Inmunoglobulinas y otras moléculas de células B. [Online].; 2000 [cited 2020 Noviembre. Available from: https://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_05.htm.
55. Hirsch. Análisis de sangre: Inmunoglobulinas. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre. Available from: <https://kidshealth.org/es/parents/test-immunoglobulins-esp.html>.
56. Juárez Rubio. Funciones efectoras de inmunoglobulinas : activación del complemento y unión a receptores celulares. Repositorio. Madrid: UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, Departamento de Bioquímica; 2015.
57. Provan , Nokes , Agrawal S, Winer , Wood P. Guía clínica para el uso de inmunoglobulinas. Segunda ed. (GEMEH) GEdMH, editor. Madrid: IVIg Guideline Development Group; 2011.

58. Pepper I. Clases de inmunoglobulinas y sus funciones. [Online].; 2020 [cited 2020 Noviembre]. Available from: <http://atlas.med.uchile.cl/21.htm>.
59. Morton Juaneda A. Nematodos entomopatógenos. Repositorio. Barcelona: Universidad Autonoma de Barcelona, Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología; 2009.
60. Mirkin. RESPUESTA INMUNE EN LAS INFECCIONES PARASITARIAS. Investigación. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires, Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología; 2020.
61. Barrios Muñoz MdR. Aspectos de actualidad sobre inmunidad contra algunos nematodos gastrointestinales en vacunos. Revista electrónica de Veterinaria. 2013; 14(2).
62. Fonte Galindo , Baldriche Acosta , Sarracent Pérez , Hernández Barrios , Fong González. Regulación por helmintos de las respuestas inmunitarias del hospedero. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2016; 68(1).
63. Fawzi M. Vacunación frente a la hemoncosis ovina con la proteína. Repositorio. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal; 2013.
64. Liu , Quan Wang , Zhuo Zhang , Bing , Li LG. Protective immunity against *Trichinella spiralis* infection induced by TsNd vaccine in mice. Parasites Vectors. 2015 Marzo; 8(185).
65. Cañedo Andalia , Rodríguez Labrada , Vázquez Mojena Y. Centro Nacional para la Información Biotecnológica de los Estados Unidos: un palacio de la información para la medicina molecular. ACIMED. 2009; 19(4).
66. NIH. Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI). [Online]. [cited 2020 Noviembre 19]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/>.
67. Pérez Carrillo JA. ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA VACUNAS DE ADN. Repositorio. Latacunga: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI; 2020.
68. Barbosa M, Alexandre G, Soares M, Marques C, Ros Rodriguez O. Cytokine Gene Expression in the Tissues of Dogs Infected by *Leishmania infantum*. Comparative Pathology. 2011; 145(4): p. 336-344.
69. Alves C, Amorim I, Ribeiro RRR, Moura P. Expression of IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10 and TGF-beta in lymph nodes associates with parasite load and clinical form of disease in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Veterinary immunology and immunopathology. 2009 Abril; 128(4): p. 49.
70. Manna L, Reale S, Picillo E. Interferon-gamma (INF-gamma), IL4 expression levels and *Leishmania* DNA load as prognostic markers for monitoring response to treatment of leishmaniotic dogs with miltefosine and allopurinol. Cytokine. 2008 Noviembre; 44(2):

p. 88-92.

71. Albuquerque , Morinha F, Requicha , Dias , Viegas , Bastos E. A case-control study between interleukin-10 gene variants and periodontal disease in dogs. *GENE*. 2014 Enero; 53(9): p. 75-81.
72. Felix AO, Nobre MO. Comparison of systemic interleukin 10 concentrations in healthy dogs and those suffering from recurring and first time *Demodex canis* infestations. *Veterinary Parasitology*. 2013 Marzo; 193(3): p. 312-315.
73. Clements DN, Short D, Barnes , Kennedy LJ, Ferguson JF, Butterworth SJ. A Candidate Gene Study of Canine Joint Diseases. *Journal of Heredity*. 2010 Febrero; 101(1): p. 54-60.
74. Ollier WE, Kennedy L, Thomson , Barnes A, Bell SC, Angles JM. Dog MHC alleles containing the human RA shared epitope confer susceptibility to canine rheumatoid arthritis. *Immunogenetics*. 2001 Octubre; 53(8): p. 69-73.
75. Wang , Nag , Tuohy JL, DeParis , Fogle JE. T regulatory cell induced Foxp3 binds the IL2, IFN γ , and TNF α promoters in virus-specific CD8+ T cells from feline immunodeficiency virus infected cats. *Microbiology and Immunology*. 2018; 34(3): p. 1-24.
76. Gunn Moore DA, Caney SM, Gruffydd-Jones, TJ, Helps CR. Antibody and cytokine responses in kittens during the development of feline infectious peritonitis (FIP). *Vet Immunol Immunopathol*. 1998 Octubre; 65(2): p. 221-242.
77. Weiss RC, Scott FW. Increased plasma levels of leukotriene B4 and prostaglandin E2 in cats experimentally inoculated with feline infectious peritonitis virus. *Vet Res Commun*. 1988; 12(4): p. 13-23.
78. Hsieh LE, Chueh L. Identification and genotyping of feline infectious peritonitis-associated single nucleotide polymorphisms in the feline interferon- γ gene. *Veterinary Research*. 2014; 45(5).
79. Bojarójc Nosowicz B, Kaczmarczyk, E, Stachura A, Kubińska M. Tumor necrosis factor-alpha (TNF α) gene polymorphism and expression of membrane-bound TNF α protein on CD11b+ and IgM+ cells in cows naturally infected with bovine leukemia virus. *Journal of Veterinary Sciences*. ; 18(3): p. 533-539.
80. Konnai S, Usui T, Ikeda M, Kohara J, Hirata T.) Imbalance of tumor necrosis factor receptors during progression in bovine leukemia virus infection. *Virology*. 2005; 33(9): p. 239-248.
81. Brännström , Norman RJ. Participación de leucocitos y citocinas en el proceso ovulatorio y la función del cuerpo lúteo. *Hum Reprod*. 1993 Octubre; 10(8): p. 62-75.
82. KAWASAKI , AOKI , MAGATA , MIYAMOTO , KAWASHIMA , HOJO. El efecto de los polimorfismos de un solo nucleótido en el factor de necrosis tumoral α Gen sobre el

- rendimiento reproductivo y la función inmune en el ganado lechero. *Revista de reproducción y desarrollo*. 2014; 60(3).
83. Ying Liu W, Dai , Sun L, Zhu. Effects of the -791(C→T) mutation in the promoter for tumor necrosis factor alpha on gene expression and resistance of Large White pigs to enterotoxigenic *Escherichia coli* F18. *Can J Vet Res*. 2016; 80(3): p. 203-208.
84. Raz E. Organ-specific regulation of innate immunity. 2007 Junio; 8(1): p. 3-4.
85. Chen , Liu , Xu S, Zhou , Ge. TNF- α induced by porcine reproductive and respiratory syndrome virus inhibits the replication of classical swine fever virus C-strain. *Veterinary Microbiology*. 2019 Julio; 83(10).
86. Skarzynski DJ, Galvão A, Szóstek A, Silva E, Tramontano A. Cytokines tumor necrosis factor- and interferon- participate in. *Journal of Reproductive Immunology*. 2012 Noviembre; 93: p. 28-37.
87. Galvão A, Szóstek A. Role of tumor necrosis factor- α , interferon- γ and Fas-ligand on in vitro nitric oxide activity in the corpus luteum. 2013 Abril; 64: p. 18-21.
88. Wagner , Burton A. Interferon-gamma, interleukin-4 and interleukin-10 production by T helper cells reveals intact Th1 and regulatory TR1 cell activation and a delay of the Th2 cell response in equine neonates and foals. *Veterinary Research*. 2010 Julio; 41(4).
89. Mealey R, Stone D, Hines M, Alperin D, Littke M, Leib S. Experimental *Rhodococcus equi* and equine infectious anemia virus DNA vaccination in adult and neonatal horses: Effect of IL-12, dose, and route. *Vaccine*. 2007 Octubre; 25(43): p. 7582-7597.
90. Dervishi E, Uriarte J, Valderrábano J, Calvo J. Structural and functional characterisation of the ovine interferon gamma (IFNG) gene: Its role in nematode resistance in Rasa Aragonesa ewes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2011 Febrero; 141(1): p. 100-108.
91. Zhou H, Hickford JG, Fang Q. Polymorphisms report: allelic polymorphism of the ovine interferon gamma (IFNG) gene. *Mol. Cell*. 2007; 21: p. 76-77.
92. Warrington JA, Nair A, Mahadevappa M, Tsyganskaya M. Comparison of human adult and fetal expression and identification of 535 housekeeping/maintenance genes. *Physiol. Genomics*. 2000; 2(3): p. 143-147.
93. Sayers G, Good B, Hanrahan JP, Ryan M, Sweeney T. Intron 1 of the interferon c gene: Its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. *Research in Veterinary Science*. 2005 Diciembre; 79: p. 191-196.
94. Mulcahy G, Neill O, Donnelly S, Dalton JP. Helminths at mucosal barriers – interactions with the immune system. *Advance Drug Delivery Reviews*. 2005; 56: p. 853-868.
95. Zhao YJ, Huang YF. Diversity of TNF- α region in Chinese domestic goats. *Genetics and Molecular Research*. 2015 Marzo; 14(2): p. 3601-3605.

96. Blum J, Dosogne H, Vangroenweghe F, Hammon R. Tumor necrosis factor-[alpha] and nitrite/nitrate responses during acute mastitis induced by *Escherichia coli* infection and endotoxin in dairy cows. *Domestic Animal*. 2000; 19: p. 223-235.
97. Fumagalli , Pozzoli , Cagliani , Comi. Parasites represent a major selective force for interleukin genes and shape the genetic predisposition to autoimmune conditions. *Exp Med*. 2009; 206(6): p. 1395-1408.
98. Tao W, Liu Q, Xia M, Xu Y, Rehman S. Development and applications of a monoclonal antibody against caprine interferon-gamma. *BMC Biotechnol*. 2019 Diciembre; 19(102).
99. Friebe A, Friederichs S, Scholz K, Janssen , Schlapp T, Mercer A. Characterization of immunostimulatory components of orf virus (parapoxvirus ovis). *Gen Virol*. 2011; 92(7): p. 71-84.
- 100 Haq, Elawadli , Parvizi , Mallick AI. Interferon-c influences immunity elicited by . vaccines against very virulent Marek's disease virus. *Antiviral Research*. 2011 Abril; 90: p. 218-226.
- 101 Shah A, Song , Xu , Yan , Ruirui. The DNA-induced protective immunity with chicken . interferon gamma against poultry coccidiosis. *Parasitologia*. 2010 Agosto; 107(3).
- 102 Chisari V, Schultz. Recombinant Duck Interferon Gamma Inhibits Duck Hepatitis B . Virus Replication in Primary Hepatocytes†. *Journal of Virology*. 1999 Abril; 73(4).
- 103 Rollier C, Charolhois C, Jamard C, Cova L. Early life humoral response of ducks to DNA . immunization against hepadnavirus large envelope protein. *Vaccine*. 2000 Julio; 18(2).

ANEXOS

Anexo 1.- AVAL DE TRADUCCIÓN



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

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

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

Latacunga, 11 de marzo del 2021

Atentamente,

MCs. Emma Jackeline Herera Lasluisa
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0502277031

1803027935
Firmado digitalmente por
1803027935 VICTOR HUGO ROMERO GARCIA
VICTOR HUGO ROMERO GARCIA
Fecha: 2021.03.12 10:06:37 -05'00'

Anexo 2.- HOJA DE VIDA DOCENTE TUTOR

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: CUEVA SALAZAR NANCY MARGOTH
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Latacunga 29 de septiembre de 1967

Edad: 50 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria: Cotopaxi Latacunga La Matriz
Provincia Cantón Parroquia

Av. Roosevelt y Junin
Dirección

Teléfono(s): 023810621 0998300152
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: nancy.cueva@utc.edu.ec **Cédula de Identidad o Pasaporte:** 0501616353

Tipo de sangre: B+ **Estado Civil:** Casada

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

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

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

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



Dra. Mg. Nancy Cueva Salazar

Firma del Tutor o estudiante

Anexo 3.- HOJA DE VIDA - ESTUDIANTE

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: VÁSQUEZ SALAZAR KERLY DANIELA
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Quito, 18 de Julio de 1997

Edad: 23 años **Género:** Femenino

Nacionalidad: Ecuatoriana **Tiempo de Residencia en el Ecuador (Extranjeros):**

Dirección Domiciliaria: Pichincha Quito Jardín del Valle
Provincia Cantón Parroquia

Monjas Jardin del Valle
Dirección

Teléfono(s): 022321934 0983305468
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: Vasquez. Kerly7604@utc.edu.ec **Cédula de Identidad o Pasaporte:** 1723827604

Tipo de sangre: B+ **Estado Civil:** Soltera

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Bachillerato	Unidad Educativa Experimental "Manuela Cañizares"	Bachillerato General Unificado	ME-REF-04679150	Ecuador - Quito

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

3. HISTORIAL PERSONAL:

Unidad Académica donde estudia: UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI

Carrera que sigue: MEDICINA VETERINARIA

Vásquez Salazar Kerly Daniela

Firma del estudiante

Anexo 4.- BASE DE DATOS SECUENCIAS CODIFICANTES DE LOS GENES DE PARÁSITOS NEMATODOS

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN CANINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
IFN-γ (403801)	Cromosoma: 10 Localización: (10530420..10535258)	4	Exón 3	234	CCAGATCATTCAAAG [G] AGCATGGATACCAT	Activa macrófagos responsable de la inmunidad mediada por células	Leishmania canina	Barbosa M., 2011; Nascimento M.,2015
			Exón 4	415	TCATCAAAGTGATGA [A] TGATCTCTCACCAA			
IL-10 (403628)	Cromosoma: 7 Localización: (5,622,589..5,626,365)	5	Exón 1	148	CTTCCCAGCCAGCCT [G] CCCCACATGCTCCG	IgE, eosinófilos, respuesta Th2	Enfermedad periodontal (EP),Demodicosis canina Leishmania Canina	Albuquerque C., 2014 Felix A., 2013

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN FELINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
IFN-γ (493965)	Cromosoma: B4 Localización: (95329479..95334070,	4	Exón 2	1390	ATATTTTAATGCAAG [T] AATCCAGATGTAGC	Activa macrófagos y se responsabiliza de la inmunidad mediada por células	Peritonitis Infecciosa,Felina (FIP), Coronavirus Felino (FCoV)	Wang Y., 2018
IL-10 (493683)	Cromosoma: F1 Localización: (37878797..37882687)	5						

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN BOVINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	N° EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
TNF- α (280943)	Cromosoma: 23 Localización: (27,716,170...27,718,787)	4	Exón 4	-195	ACTGCAGGTTGCTCC [C] ACCATGCCTCCTCG	Activa neutrófilos y macrófagos	Rendimiento reproductivo y la función inmune en el ganado lechero	Kawasaki Y.,2014
				-824	CCGAGTCTGGGCAGG [T] CTACTTTGGGATCA	Citocinas inflamatorias, IgM	Virus de la Leucemia Bovina (BLV)	Nosowicz B., 2015

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN PORCINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	N° EXONES	EXÓN/INTRÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
TNF- α (397086)	Cromosoma: 7 Localización: (23699635..23702393)	4	Intrón 1	-791	CCCCAGAAGGAAGA [..] GTTTCCAGCTGGCCC	Macrófagos, monocitos y linfocitos, estimula a las células T para que liberen citocinas	Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC) F18	Ying W., 2016 Chen D.,2019

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN EQUINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	N° EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
----------	----------------------------	-----------	-----------------------------------	----------	-------------------	-----------	-------------------------------------	------------

TNFα (100033834)	Cromosoma: 20 Localización: (32,223,534..32,225,423)	4	Exón 1	143	TGCCTCAGCCTCTTC [T] CCTTCCTCCTTGTC	Activa neutrófilos y macrófagos responsable de las células Th1	Regulación autocrina y paracrina del desarrollo folicular.	Skarzynski D., 2012
IFN-γ (100034181)	Cromosoma: 6 Localización: (84,510,150..84,513,295)	4	Exón 4	-165	CAAAGCTAACCTGAG [G] AAGCGGAAGAGGAG	Activa neutrófilos y macrófagos responsable de las células Th1	Infección por el virus del herpes equino tipo 1 y Virus de la influenza equina	Wagner B.,2010
IL-5 (100034199)	Cromosoma: 14 Localización: (42,325,088..42,326,664)	4						
IL-13 (100034113)	Cromosoma: 14 Localización: (42223438..42227607)	4						

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN OVINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN/ INTRÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
TNFα (443540)	Cromosoma: 20 Localización: (29552630..29555397)	4						
IFN-γ (443396)	Cromosoma: 3 Localización: (162,701,025..162,705,420)	4	Intrón 1	49	CTTAGCTTTACTGCT [C] TGTGTGCTTTTGGG	Activa monocitos macrófagos responsable de las células Th1	Resistencia a nematodos Haemonchus contortus	Dervishi E., 2011 Mulcahy G., 2005
			Intrón 3	-641	GAATGACCTGTCGCC [A] AAATCTAACCTCAG	Activa neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y IgA e IgE		

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN CAPRINOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN/ INTRÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
TNFα (100861232)	Cromosoma: 23 Localización: (22,245,930..22,248,693)	4	Exón 4	273	AGCCAACATCAGCGC [T] CCGGGGCAGCTCCG		Análisis de Polimorfismos en el gen	Zhao Y., 2015
IFN-γ (100860815)	Cromosoma: 5 Localización: (44,984,285..44,988,400)	4	Intrón 1	-498	GGGGATCCACCATGA [R] AATACACAAGCTCCT	Activa monocitos y macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la artritis encefalitis caprina (CAEV LTR)-Ectima contagioso (Virus Orf)	Tao W., 2019 Beyer J.,1998

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN GALLINAS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
IFN-γ (396054)	Cromosoma: 1 Localización: (35.173.604..35.177.751)	4	Exón 4	-855	TTCAGCATCTTACAG [A] AGCTGGTGGATCCT	Activa macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la enfermedad de Marek (MDV) - Bronquitis infecciosa IBV	Haq K., 2011

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN PATOS



IFN-γ (101790439)	Cromosoma: 1 Localización: (37,182,316..37,194,448)	6	Exón 5	-602	AGCTCTAAGCATATC [T] AAATCCAAATCAAG	Activa macrófagos responsable de las células Th1	Virus de la hepatitis B del pato (DHBV)	Chisari F.,1999 Huang A.,2001 Long J.,2005
---	---	---	---------------	------	---------------------------------------	--	---	--

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN PAVOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
IFN- γ (100543502)	Cromosoma: 1 Localización: (34,524,910..34,528,998)	4						

SECUENCIAS CODIFICANTES DE GENES EN CAMELIDOS SUDAMERICANOS



GEN / ID	LOCALIZACIÓN / CROMOSOMA #	Nº EXONES	EXÓN RELACIONADO CON LA INMUNIDAD	POSICIÓN	SECUENCIA DE ARNm	INMUNIDAD	PATOLOGIAS CON LA CUAL SE EVIDENCIO	REFERENCIA
IFN- γ (105101111)	Cromosoma: 12 Localización: (24,454,392..24,459,840)	4						

