



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**ANÁLISIS DE LOS GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA
INMUNITARIA DE LOS PARÁSITOS (*TREMATODOS*) PARA EL DISEÑO DE
VACUNAS DE ADN**

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

Autor:

Pamela Francisca Molina Alvarez

Tutor:

Dra. Mg Nancy Margoth Cueva Salazar

LATACUNGA – ECUADOR

Septiembre 2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Molina Alvarez Pamela Francisca, con cedula de ciudadanía No. **0504430364**, declaro ser autora del presente proyecto de investigación: “**Análisis de genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (*trematodos*) para el diseño de vacunas de ADN.**”, 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, 21 de septiembre del 2020

Pamela Francisca Molina Alvarez

C.C.: 0504430364

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 **MOLINA ALVAREZ PAMELA FRANCISCA** identificada con cédula de ciudadanía **0504430364**, de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. M.B.A. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector 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: Septiembre 2015 – Febrero 2016

Fecha de Finalización: Mayo 2020- Septiembre 2020

Aprobación en Consejo Directivo: 07 de julio del 2020

Tutora: Dra. Mg Nancy Margoth Cueva Salazar

Tema: Análisis de genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (*Trematodos*) para el diseño de vacunas de ADN.

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.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

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

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

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

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

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

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

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

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 21 días del mes de septiembre de 2020.

Molina Alvarez Pamela Francisca

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

LA CEDENTE

LA CESIONARIA

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA DE LOS PARÁSITOS (*TREMATODOS*) PARA EL DISEÑO DE VACUNAS DE ADN”, de Molina Alvarez Pamela Francisca, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 21 de septiembre del 2020

Dra. Mg Nancy Margoth Cueva Salazar

TUTORA DEL PROYECTO

C.C.: 0501616353

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, por cuanto, la postulante: **Molina Alvarez Pamela Francisca** con el título del Proyecto de Investigación **“ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA DE LOS PARÁSITOS (TREMATODOS) PARA EL DISEÑO DE VACUNAS DE ADN”**, 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, 21 de septiembre 2020

MVZ.MTR. Edie Gabriel Molina Causapaz

LECTOR 1 (PRESIDENTE)

CC: 1722547278

MVZ.MG. Paola Jael Lascano Armas

LECTOR 2

CC: 0502917248

DR. MG. Jorge Washington Armas Cajas

LECTOR 3

CC: 0501556450

AGRADECIMIENTO

Primeramente le doy gracias a Dios, por brindarme salud y vida, por darme fuerza para lograr obtener una de las metas más deseadas en mi vida.

A mis padres quienes con su amor y sacrificio me apoyaron y me impulsaron a seguir adelante con mis estudios.

Le doy gracias a mi hermana quien siempre estuvo apoyándome, aconsejándome diariamente y guiándome hacia adelante con una mentalidad positiva.

Le doy gracias a todos mis docentes que fueron y son el eje de mi carrera los cuales me ayudaron día a día con la enseñanza de sus conocimientos en todo este tiempo académico en el cual me siento muy agradecida con ellos ya que por medio de sus enseñanzas voy a continuar con mi vida profesional.

También quiero agradecer a mi Tutora del proyecto de investigación la Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar Mg. por la orientación y por la ayuda brindada que gracias a su conocimiento y su invaluable apoyo durante esta etapa.

Pamela Francisca Molina Alvarez

DEDICATORIA

A mi mamá Lourdes Álvarez y mi papá Eduardo Molina a mi hermana Susana que de manera incondicional me alentaron a seguir adelante durante todo este recorrido y hermoso camino.

Pamela Francisca Molina Alvarez

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

TITULO: “ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA DE LOS PARÁSITOS (*TREMATODOS*) PARA EL DISEÑO DE VACUNAS DE ADN”.

AUTOR: *Molina Alvarez Pamela Francisca*

RESUMEN

El presente proyecto de investigación está basado en una metodología documental, donde se elaboró una base de datos de todos los parásitos (*Trematodos*) de cada una de las especies animales, la que está estructurada por: especie animal, parásito, secuencia genómica, ubicación, gen, tejido, inmunidad y referencia, en donde la información obtenida podrá ser utilizada por biotecnólogos para la elaboración de nuevas vacunas de ADN, las mismas que ayudarán a controlar el parasitismo en los animales, creando así una respuesta inmunitaria propia del animal, alcanzando así controlar ciertas enfermedades, provocadas por estos parásitos. Para lograr obtener resultados beneficiosos, se buscó todo tipo de información sobre la secuencia genética de cada uno de los parásitos en las diferentes especies como: bovino, ovino, caprino, equino, porcino, camélidos sudamericanos, lagomorfos, cobayos, caninos, felinos y aves (gallina, pato, ganso y pavo). Esta información se obtuvo a través del sistema NCBI Centro Nacional para la Información Biotecnológica o Nacional, sistema que nos facilitó toda la información genética de cada parásito incluida su secuencia, dándonos a conocer la importancia del segmento ADN que tiene cada uno de los parásitos, una vez que se obtuvo toda la información necesaria se logró identificar que los principales genes relacionados con la inmunidad en las diferentes especies son: Bovino Th2, Ovino Th2, Caprino Th2, IFN- γ ; Porcino Th1,Th2; Equino TGF- β , IFN- γ ; Canino Th2, IFN- γ ; Felino Th2; Cobayo, Th2, IL-5; Lagomorfo Th2, IFN- γ ; Camélidos Sudamericanos Th0 y Th2 IFN- γ ; Aves (gallina, pato, ganso y pavo) Th2, IL4, IL10, IL13, T CD4 + y CD8, donde se considera que la respuesta inmunitaria tipo 2 humoral es la más habitual en los *Trematodo*, considerando también que estos genes son

los principales candidatos para la elaboración de vacunas de ADN siendo esta vacuna la encargada de generar inmunidad.

Palabras clave: Parásitos, *Trematodos*, Secuencia genética, ADN, Vacunas, Antígeno, Centro Nacional para la Información Biotecnológica o Nacional NCBI.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL
RESOURCES**

TITLE: “ANALYSIS OF GENES RELATED TO THE IMMUNE RESPONSE OF PARASITES (*TREMATODES*) FOR THE DESIGN OF DNA VACCINES”.

AUTHOR: *Molina Alvarez Pamela Francisca*

ABSTRACT

This research project is based on a documentary methodology, where a database of all parasites (Trematodes) of each animal species was developed, which is structured by: animal species, parasite, genomic sequence, location, gene, tissue, immunity and reference, where the information obtained may be used by biotechnologists for the development of new DNA vaccines, which will help to control parasitism in animals, thus creating an animal-specific immune response, thus controlling certain diseases, caused by these parasites. To obtain beneficial results, we searched for all kinds of information on the genetic sequence of each of the parasites in the different species: bovine, sheep, goat, equine, swine, South American camelids, lagomorphs, guinea pigs, canines, cats and birds (chicken, duck, goose and turkey). This information was obtained through the NCBI National Center for Biotechnological or National Information, a system that provided us with all the genetic information of each parasite including its sequence, letting us know the importance of the DNA segment that each of the parasites has, once all the necessary information was obtained it was possible to identify that the main genes related to immunity in the different species are: Bovine Th2, Shepp Th2, Goat Th2, IFN- γ ; Porcine Th1, Th2; Equine TGF- β , IFN- γ ; Canine Th2, IFN- γ ; Feline Th2: Guinea pig, Th2, IL-5; Lagomorph Th2, IFN- γ ; South American camelids Th0 and Th2 IFN- γ ; Birds (hen, duck, goose and turkey) Th2, IL4, IL10, IL13, T CD4 + and CD8, where the humoral type 2 immune response is considered to be the most common in trematodes, also considering that these genes are the main candidates for the development of DNA vaccines, this vaccine being in charge of generating immunity.

Keywords: Parasites, Trematodes, Genetic Sequence, DNA, Vaccines, Antigen, National Center for Biotechnological or National NCBI Information.

ÍNDICE DE PRELIMINARES

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	I
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR	II
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	V
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	VI
AGRADECIMIENTO	VII
DEDICATORIA.....	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	XI
ÍNDICE DE PRELIMINARES	XIII
ÍNDICE DE CONTENIDO	XIV
ÍNDICE DE TABLAS	XVIII
ÍNDICE DE ANEXOS	XIX

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2	JUSTIFICACIÓN.....	2
3	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	3
3.1	Directos.....	3
3.2	Indirectos.....	3
4	EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	3
5	OBJETIVOS.....	4
5.1	Objetivo General.....	4
5.2	Objetivos Específicos	4
6	ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
7	FUNDAMENTACION CIENTÍFICA.....	7
7.1	Vacuna	7
7.2	Inmunogenicidad de una vacuna.....	7
7.3	Vacunología reversa	7
7.4	Vacunología inversa	8
8	SECUENCIA GENÉTICA	8
8.1	Método diseñado para secuenciar el ADN.....	9
	□ Método químico o de degradación:	9
	□ Método de Sanger:	9
9	VACUNAS DE ADN.....	9
9.1	Características de las vacunas de ADN	10
9.2	Las ventajas principales que presentan las vacunas génicas ADN:.....	10
9.3	Las desventajas principales que presentan las vacunas génicas ADN:	10
10	BIOINFORMÁTICA	11
10.1	ADN.....	11
10.2	Propiedades del ADN	11
	□ Estabilidad:	11
	□ Desnaturalización:	11

□ Renaturalización:	12
□ Hibridación:	12
10.3 TIPOS DE ADN	12
10.3.1 ADN recombinante.....	12
10.3.2 ADN mitocondrial	12
10.4 GEN	12
10.5 Tipos de genes	12
□ Genes estructurales.	12
□ Genes reguladores.....	13
10.6 GENES INMUNOLOGICOS.....	13
10.7 GENES DE ACCIÓN INMUNITARIA	13
10.8 INMUNIDAD	16
10.9 Respuesta inmunitaria.....	16
10.10 Inmunidad parasitaria.....	17
10.11 Inmunidad frente a trematodos.....	17
10.12 Inmunidad humoral	17
10.13 Inmunidad mediada por células.....	18
11 INMUNOGLOBULINAS	18
12 PATOGENIA	19
12.1 Fascioliasis o Distomatosis:.....	19
12.2 Paramphistomosis	20
12.3 Dicroceliosis	21
12.4 Esquistosomiasis intestinal	21
12.5 Fascioloides Magna	22
12.6 Paragonimiasis	22
12.7 Fasciopsiasis	22
12.8 Fasciolosis.....	23
13 LAS VACUNAS DE PARÁSITOS TREMATODOS YA REALIZADAS	24
13.1 La vacuna cisteína proteinasas contra el trematodo Fasciola hepática	24
13.2 La vacuna Sm14 contra el trematodo Schistosoma monsoni	24
13.3 La vacuna CL1 contra el trematodo Fasciola magna.....	25

14	TREMATODOS	25
15	CENTRO NACIONAL PARA LA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI) 28	
15.1	Diversas responsabilidades de la base de datos NCBI	29
16	VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTÍFICAS	29
17	METODOLOGÍAS	30
17.1	Tipo de Investigación.....	30
	□ Documentales:	30
17.2	Métodos	30
	□ Analítico:	30
17.3	Técnicas	30
	□ Ficha Bibliográfica:	30
	□ Ficha de Información Electrónica:.....	30
18	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	31
18.1	Parásitos trematodos en Bovinos.	31
18.2	Parásitos <i>Trematodos</i> en ovino	33
18.3	Parásitos <i>Trematodos</i> en caprino	35
18.4	Parásitos <i>Trematodos</i> en porcino	36
18.5	Parásitos <i>Trematodos</i> en equino	38
18.6	Parásitos <i>Trematodos</i> en canino	39
18.7	Parásitos Trematodos en felino.....	41
18.8	Parásitos <i>Trematodos</i> en cobayo.....	42
18.9	Parásitos <i>Trematodos</i> en lagomorfos	43
18.10	Parásitos <i>Trematodos</i> en Camélidos Sudamericanos	44
18.11	Parásitos <i>Trematodos</i> en aves	45
19	IMPACTO	46
19.1	Impacto técnico.....	46
20	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
20.1	CONCLUSIONES	47
20.2	RECOMENDACIONES.....	48
21	BIBLIOGRAFIA.....	49

22 ANEXOS..... 60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales parásitos Trematodos que afectan a las diferentes especies animales ...	26
Tabla 2 Genes identificados en parásitos Trematodos en bovinos	33
Tabla 3 Genes identificados en parásitos Trematodos en ovinos	34
Tabla 4 Genes identificados en parásitos Trematodos en caprinos	36
Tabla 5 Genes identificados en parásitos Trematodos en porcinos	37
Tabla 6 Genes identificados en parásitos Trematodos en equinos	39
Tabla 7 Genes identificados en parásitos Trematodos en caninos	40
Tabla 8 Genes identificados en parásitos Trematodos en felinos.....	42
Tabla 9 Genes identificados en parásitos Trematodos en cobayos	43
Tabla 10 Genes identificados en parásitos Trematodos en lagomorfos	44
Tabla 11 Genes identificados en parásitos Trematodos en Camélidos sudamericanos.....	45
Tabla 12 Genes identificados en parásitos Trematodos en gallinas	46
Tabla 13 Genes identificados en parásitos Trematodos en patos	46
Tabla 14 PARASITOS TREMATODOS ENTODAS LAS ESPECIES	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo No.1.Aval del traductor.....	60
Anexo No.2. Hoja de vida Docente.....	61
Anexo No.3. Hoja de vida Estudiante	62
Anexo No.4. Parasitos <i>Trematodos</i> en todas las Especies	63

1 INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: Análisis de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (Trematodos) para el diseño de vacunas de ADN.

Fecha de inicio: 25 de Mayo 2020

Fecha de finalización: 11 de Septiembre 2020

Facultad Académica que auspicia: Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Medicina Veterinaria

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

Equipo de Trabajo:

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

Pamela Francisca Molina Álvarez (Anexo 2)

Área de Conocimiento:

AGRUCULTURA, SILVICULTURA Y PESCA

Sub área:

64. Veterinaria

Línea de investigación: Salud animal

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

2 JUSTIFICACIÓN

Esta investigación tiene como propósito principal el estudio y análisis de los genes relacionados con la respuesta inmunitaria, sobre todo por la falta de información del ADN de estos parásitos (*Trematodos*) que tienen todos los animales domésticos, siendo estos parásitos los que provocan un retraso en el desarrollo del animal, pérdida de peso, mala digestibilidad, pérdidas económicas, así como también zoonosis, por este motivo se realizó esta investigación, para así lograr evitar todos estos problemas ocasionados por estos parásitos, dando como objetivo principal la recolección y análisis de toda la información obtenida, para posteriormente elaborar vacunas de ADN, información que será recopilada mediante artículos científicos, revistas científicas, artículos académicos, artículos científicos, bibliotecas virtuales como también el sistema NCBI Centro Nacional para la Información Biotecnológica o Nacional, sistema encargado de agrupar una base de datos muy amplia, que nos permitirá identificar y determinar la secuencia genómica de cada uno de los parásitos (*Trematodos*) que tiene cada especie animal.

Se creará una base de datos, donde será recopilada toda la información sobre la respuesta inmunitaria, teniendo como beneficiarios a biotecnólogos quienes se dedican al estudio y creación de vacunas, productores de animales de granja y dueños de mascotas, especies animales menores y mayores, por otro lado el presente estudio será de carácter científico con un impacto técnico el cual nos ayudará a conocer de manera crítica, los avances y el significado de la biotecnología, y por ende, de la biología molecular y la ingeniería genética en la medicina veterinaria así como en la producción animal siendo muy importante actualmente.

3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.

3.1 Directos.

- Biotecnólogos que se encargan de la elaboración de vacunas.
- Proyecto de investigación mecanismo Inmunológico Humoral en Animales Domésticos.

3.2 Indirectos.

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

4 EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

Dentro de los parásitos (*Trematodos*) son organismos cosmopolitas a nivel mundial que se encuentran en todo el mundo (1) y que se alojan u hospedan en las diversas especies como son los: Bovinos, Ovinos, Caprinos, Porcinos, Equinos, Camélido sudamericanos, Cobayos, Lagomorfos, Caninos, Felinos y Aves, afectando también al hombre, teniendo un mecanismo de sobrevivencia muy desarrollada pudiendo tranquilamente habitar en condiciones mínimas de humedad y temperatura lo que ayuda a su propagación, logrando sobrevivir por tiempos prolongados, provocando inconvenientes en la salud del animal así como también en su deficiencia nutricional, ocasionando pérdidas económicas al productor, en el caso de los animales domésticos como los perros y gatos, provocan graves problemas gastrointestinales e incluso podrían provocar la muerte de estos.

No todos los parásitos de la familia (*Trematoda*) consta con su secuencia genética, provocando así la deficiencia y muy pocos estudios sobre su genoma, teniendo como resultado poca información de cada uno de los parásitos, dificultando saber todas las funciones que tiene cada parásito en el organismo.

A nivel mundial esta clase de parásitos (*Trematodos*) provocan diferentes enfermedad que afecta negativamente a la producción y productividad ganadera, debido a las grandes pérdidas económicas que ocasionan, se han calculado pérdidas económicas alrededor de U\$S 3 billones anualmente en todo el mundo, Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA). (2)

En Latinoamérica existen datos que incluyen la investigación genética (3) de los diversos parásitos que existen, por otra parte se estima que en los países desarrollados imponen sus prioridades gracias a su tecnología y que ellos en la investigación genómica van a ser los mayores beneficiarios en cuanto a las aplicaciones, independientemente de las colaboraciones con países latinoamericanos.

En el Ecuador se ha logrado identificar estudios sobre la secuencia genómica del parásito *Echistosoma revolutun* que se encuentra en las gallinas. (4)

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

- Analizar los genes relacionados con la respuesta inmunitaria de los parásitos (*Trematodos*), para el diseño de vacunas de ADN.

5.2 Objetivos Específicos

- Investigar la secuencia genética de los parásitos (*Trematodos*) de la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).
- Elaborar una base de datos de los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (*Trematodos*) de las diferentes especies animales.

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

Objetivos Específicos	Actividades	Resultados de las actividades	Verificables
<p>Investigar la secuencia genética de los parásitos (<i>Trematodos</i>) de la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica.</p>	<p>Revisión bibliográfica de los parásitos (<i>Trematodos</i>) de los animales domésticos y animales de granja.</p> <p>Secuencia genética. Comprobación de secuencia genética en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica.</p>	<p>Parásitos: Bovinos:27/Ovino:16/Caprino:14/Porcino:14/Equino:8/Canino:19/Felino:20/Cobayos:3/Lagomorfos:3/Camélidos sudamericanos:3/Gallinas: 20/Pato:13/Ganso/ Pavo:5.</p> <p>Secuencias genómicas de genes inmunitarios: Bovinos: 6/Ovino:7/Caprino:6/Porcino:5/Equino:3/Canino:6/Felino:5/Cobayos:3/Lagomorfos:3/Camélidos sudamericanos:3/Gallinas: 1/Pato:1/Ganso/ Pavo: 0.</p>	<p>Artículos científicos Libros Tesis doctorales Revistas de Medicina Veterinaria</p> <p>Sistema nacional de biotecnología (NCBI)</p>
<p>Elaborar una base de datos de los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (<i>Trematodos</i>) de diferentes especies animales.</p>	<p>Comprobación de los datos obtenidos sobre la secuencia genética tras la investigación realizada coincidan con las secuencias genéticas del Sistema nacional de biotecnología NCBI.</p>	<p>Bovino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):30% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):25%/ Sin Datos : 60%</p> <p>Ovino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):35% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):10 %/ Sin Datos : 55%</p> <p>Caprino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):35% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):15%/ Sin Datos : 50%</p> <p>Porcino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):27% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):14%/ Sin Datos : 59%</p> <p>Equino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):15% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):10%/ Sin Datos : 75%</p> <p>Canino:</p>	<p>Base de datos tabla Excel</p>

		<p>Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):30% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):25%/ Sin Datos : 72%</p> <p>Felino: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):30% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):25%/ Sin Datos : 45%</p> <p>Cobayos: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):70% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):20%/ Sin Datos : 10%</p> <p>Lagomorfos: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):70% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):20%/ Sin Datos : 10%</p> <p>Camélidos Sudamericanos: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):70% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):20%/ Sin Datos : 10%</p> <p>Gallinas: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):10% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):15%/ Sin Datos : 75%</p> <p>Patos: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):10% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):12%/ Sin Datos : 78%</p> <p>Ganso/ Pavo: Datos Completos (Secuencia Genómica, Ubicación, Gen, Tejido, Inmunidad, Referencia):0% / Datos Incompletos (Secuencia Genómica, Ubicación):0%/ Sin Datos : 0%</p>	
--	--	---	--

7 FUNDAMENTACION CIENTÍFICA.

7.1 Vacuna

Productos biológicos, compuestos por una suspensión de microorganismos atenuados o muertos que son aportados al sistema inmunitario para generar inmunidad e inducir respuestas inmunitarias específicas protectoras que inactiven, destruyan o suprima al agente infeccioso patógeno (5) como pueden ser: parásitos, bacterias, microorganismos, virus, toxinas, etc. Estimulando que se genere una inmunidad propia del animal logrando la formación de anticuerpos encargados de proteger al organismo frente a futuras infecciones, obteniendo inmunización contra diversas enfermedades.(6)

El objetivo principal de una vacuna es inducir una inmunidad protectora de larga duración, limitando en lo posible a la infección de algún agente infeccioso patógeno.

7.2 Inmunogenicidad de una vacuna

La inmunogenicidad es la capacidad de una vacuna de inducir una respuesta inmunitaria específica generada. La respuesta depende de los linfocitos B, y T. Los linfocitos, B al replicarse y diferenciarse después de la estimulación antigénica, producen anticuerpos de diferentes isotipos. Los linfocitos T , a su vez crean la respuesta inmunológica mediada por células.(7)

Las vacunas producen una inmunogenicidad donde el antígeno es reconocido por el organismo desarrollándose una respuesta inmune y protectora frente a un agente infeccioso patógeno donde la capacidad que posee una vacuna puede producir una respuesta rápida, eficaz y duradera frente a un antígeno permitiendo conocer y evaluar el desarrollo que tendrá el antígeno dentro del organismo, evidenciando que el sistema inmunitario ha reconocido los antígenos de la vacuna respondiendo al desarrollo de respuestas inmunes.(8)

7.3 Vacunología reversa

La vacunología reversa permite realizar nuevas aproximaciones haciendo posible el desarrollo de vacunas basadas en epitopos derivados del genoma completo, por lo que, se podría diseñar una vacuna totalmente sintética que contuviese cadenas de los mejores epitopos codificados por el microorganismo, pudiendo excluirse aquellos poco inmunogénicos o que muestren potencialmente reactividad cruzada con otros genes del

propio organismo, para comprobar la existencia de una inmunidad protectora, dando como facilidad que todos los genes del patógeno puedan ser comprobados sin ningún tipo de sesgo.(9)

Una de las características de este tipo de vacunas es identificar cuáles son los antígenos con mayores posibilidades de servir como candidatos para el desarrollo de vacunas, asumiendo la identificación no sólo de los antígenos observados mediante métodos tradicionales, sino también de otros que funcionan de modos completamente diferentes, permitiendo el descubrimiento de nuevos métodos de intervención inmune. (10)

7.4 Vacunología inversa

La vacunología inversa se encarga de examinar el genoma de un patógeno que es examinado mediante enfoques bioinformáticos, donde consta con una base de análisis de las secuencias del genoma, permitiendo identificar los antígenos con más probabilidades para desarrollar una vacuna, donde se incluye genes codificados para proteínas con localización extracelular, péptidos señalizados, y epítomos de células B. El desarrollo de una vacuna comienza con la identificación y reconocimiento de los genes que pueden combinarse con un organismo diferente que le permita multiplicarse rápidamente siendo capaces de generar una respuesta inmune protectora. (11)

Una de las características de la vacunología inversa es que no se hace necesario cultivar el microorganismo ya que el proceso comienza con la información del genoma en una base de datos. (12)

8 SECUENCIA GENÉTICA

Es toda sucesión donde se permite determinar el orden y la secuencia de las bases nitrogenadas en el material genético como son: adenina (A) timina (T) citosina (C) guanina (G) moléculas que forman la molécula de ADN, ayudando así a entender como está constituido un fragmento de ADN, ARN, un gen o incluso el genoma completo de un organismo, sirve no solo para identificar la estructura del genoma sino para realizar análisis comparativos de secuencias genéticas de diferentes genes.(13)

La secuenciación del ADN tiene como primer objetivo el análisis genético de un gen o de un genoma completo, es decir determinar la secuencia de sus nucleótidos.(14)

8.1 Método diseñado para secuenciar el ADN

- **Método químico o de degradación:** método de secuenciación que depende de la degradación o ruptura química específica del ADN. (14)
- **Método de Sanger:** método enzimático que interrumpe de forma controlada la síntesis de una hebra complementaria durante una replicación in vitro, mediante la enzima ADN polimerasa método que permite secuenciar fragmentos más largos y con menor margen de error.(15)

9 VACUNAS DE ADN

Las vacunas de ADN son anillos simples de ADN que tienen un gen codificado de un antígeno y un promotor para que el gen pueda expresarse en células de mamíferos, método para producir todo tipo de inmunidad demostrando ser capaces de inducir respuestas humorales y sobre todo celulares (linfocitos Th 1 y Tc).(16) Las vacunas génicas ADN pueden acarrear genes que codifican una o más proteínas antigénicas de uno o varios agentes patógenos que son capaces de inducir inmunidad protectora; además, se pueden incluir genes que potencialicen la respuesta inmune generando así una inmunidad completa.(17)

Las vacunas de ADN se basan en la inmunización con un plásmido que contiene la información genética de uno o varios genes que codifican para proteínas inmunogénicas de determinado patógeno. El plásmido actúa como un vector permitiendo la expresión en el interior de las células que son transfectadas como resultado de la inmunización. La respuesta inmune generada, humoral o celular, prepara al individuo vacunado para contrarrestar una infección.(18)

Las vacunas de ADN también se han utilizado para elaborar anticuerpos policlonales y monoclonales, esto ha permitido la producción de anticuerpos como reactivos sin necesidad de purificar el antígeno, la producción recombinante y luego la purificación del antígeno con el fin de inmunizar al organismo para el desarrollo de anticuerpos.(16)

9.1 Características de las vacunas de ADN

Las vacunas de ADN son el método más sencillo porque constan de un plásmido codificador solamente del antígeno lo que quiere decir que el ADN puede encapsularse en macropartículas, para protegerlo contra la degradación y facilitar su absorción por las células presentadoras de antígenos. (19)

La vacuna de ADN actúa engañando al organismo vivo, haciéndole creer que está siendo invadido, a gran escala, por un agente infeccioso de manera que el sistema inmunológico pueda fortalecer sus defensas y fortalecer su inmunidad, después de que el organismo reconozca una invasión este neutraliza rápidamente los agentes causantes de la enfermedad o infección cuando estos aparecen.(20)

9.2 Las ventajas principales que presentan las vacunas génicas 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 costo de producción es bajo y son relativamente fáciles de fabricar.
- Son muy termoestables, por lo que no es necesario mantenerla en cadena del frío.
- Es posible la fabricación de vacunas frente a múltiples antígenos, 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. (18)

9.3 Las desventajas principales que presentan las vacunas génicas 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.
- Posibilidad de la aparición de tolerancia frente al antígeno extraño.
- Posibilidad de respuestas inmunitarias frente al ADN y aparición de autoinmunidad.
- Posibilidad de producción de efectos inmunoestimulatorios.(21)

10 BIOINFORMÁTICA

La bioinformática es el estudio de la información biológica utilizando herramientas computacionales que permiten analizar el manejo de grandes cantidades de información genética, desde su almacenamiento en el genoma hasta la obtención de los productos génicos en la célula, esto involucra la creación y desarrollo de tecnologías informáticas y computacionales para la resolución de problemas en biología molecular donde trata de desarrollar sistemas que sirvan para entender el flujo de información desde los genes a las estructuras moleculares, su función bioquímica, conducta biológica y, finalmente, su influencia en las enfermedades y la salud animal.(22)

Se debería llevar a cabo un análisis bioinformáticos para lograr obtener nuevos adyuvantes que favorezcan la orientación apropiada de la respuesta inmune y seleccionar antígenos más eficaces, donde contenga toda la información acerca de la inmunogenicidad, para así lograr seleccionar a los mejores candidatos para el desarrollo de las vacunas de ADN.

10.1 ADN

ADN es el nombre químico del Ácido Desoxirribonucleico, molécula que contiene la información genética de todos los seres vivos, consiste en dos cadenas que se enrollan entre ellas para formar una estructura de doble hélice, cada cadena tiene una parte central formada por azúcares (desoxirribosa) y grupos fosfato.(22) Las dos cadenas se mantienen unidas por enlaces entre las bases; la adenina enlaza con la timina, mediante dos puentes de hidrógeno, mientras que la citosina enlaza con la guanina, mediante tres puentes de hidrógeno.(23)

10.2 Propiedades del ADN

- Estabilidad: En condiciones normales la molécula de ADN es muy estable. pero para que se produzca la duplicación es necesaria la separación de las dos cadenas, y lo mismo para la transcripción (formación de ARN mensajero).
- Desnaturalización: Si el ADN se somete a temperaturas superiores a los 100 °C se rompen los puentes de hidrógeno que unen las bases, separándose las dos cadenas. Ocurre lo mismo con variaciones de pH. Los enlaces fosfato-pentosa-base no se rompen.

- **Renaturalización:** Si se restablecen las condiciones iniciales, el ADN recupera su estructura.
- **Hibridación:** Si se desnaturaliza una mezcla de ADN de distintas especies, en la renaturalización aparecerán formas híbridas. Esto se llama hibridación del ADN.(24)

10.3 TIPOS DE ADN

10.3.1 ADN recombinante

Es una cadena de ADN producida artificialmente y formada por la combinación de dos o más secuencias génicas es decir, identifican genes (segmentos de ADN que expresan determinadas características de un organismo), los combinan y crean nuevas secuencias. (25)

10.3.2 ADN mitocondrial

Fragmento de ácido nucleico es un material genético circular cerrado de doble cadena que se localiza en el interior de las mitocondrias celulares, se encarga de codificar diferentes proteínas que son específicas de la mitocondria para producir energía.(26)

10.4 GEN

Es todo segmento de ADN que se encuentra luego de un promotor y que puede ser transcrito por un RNA funcional, siendo la unidad molecular de la herencia donde se almacena toda información genética. (27)

Cada gen es una unidad molecular que codifica un producto funcional específico, como puede ser una proteína. Al mismo tiempo, es responsable de transmitir dicha información a la descendencia del organismo, los genes se encuentran dentro de los cromosomas (que a su vez hacen vida en el núcleo de las células). Cada gen ocupa una posición específica, denominada locus, a lo largo de la gigantesca cadena secuencial que compone el ADN.(28)

10.5 Tipos de genes

- **Genes estructurales.** Aquellos que contienen la información codificante, es decir, la que corresponde al conjunto de aminoácidos para formar una proteína específica.

- **Genes reguladores.** Genes que carecen de información codificante, pero que en cambio cumplen funciones reguladoras y de ordenamiento, determinando así el lugar de inicio y final de la transcripción genética, o cumplen roles puntuales durante la mitosis y la meiosis, o que denotan el lugar en que deberán combinarse enzimas u otras proteínas durante la síntesis.(29)

10.6 GENES INMUNOLOGICOS

Son los factores genéticos que controlan la respuesta inmunitaria, encargados de dirigir la defensa contra las enfermedades y las infecciones causadas por bacterias, virus, toxinas, parásitos y microorganismos, su complejo funcionamiento y desarrollo integra muchos componentes y procesos que son dirigidos por un complejo conjunto de genes, así como la expresión de otras características hereditarias de naturaleza antigénica. (30)

El sistema inmunológico está constituido por órganos y células con la capacidad de diferenciar antígenos propios de extraños, es el producto de estrictos procesos de selección, de células B y T; de tal manera que cuando son funcionales en la circulación, y encuentran un antígeno que no ha sido mostrado en su proceso de maduración, dichas células se pueden activar e inducir respuesta inmunes.

Los defectos en los genes inmunológicos pueden resultar en inmunodeficiencia y en susceptibilidad a la infección esto sucede cuando ciertos genes inmunológicos no son reconocidos por el sistema inmune lo que causa una infección dada por otros genes que no fueron reconocidos.(31)

10.7 GENES DE ACCIÓN INMUNITARIA

Th0: linfocitos colaboradores maduros que aún no han recibido un estímulo para la respuesta inmunitaria es decir son células vírgenes.(32)

Th1: inmunidad celular se encargan en la eliminación de patógenos intracelulares como mycobacteria, favorecen la proliferación de células Tc el reclutamiento de macrófagos y el incremento en su actividad microbicida.(32)

Th2: respuesta inmunitaria tipo 2 humoral se encarga de la eliminación de microorganismos extracelulares y parásitos como helmintos. Favorecen la proliferación de células B y el cambio de isotipo a IgE.(32)

CL5, CL4: catepsina-L5, L4 recombinante enzimas proteolíticas involucradas en la alimentación e invasión del parásito, así como en la evasión inmune.(33)

IL-3: interleuquina-3 es el factor de crecimiento para las células de origen hematopoyético. También es la encargada de producir mastocitos.(34)

IL-4: interleuquina-4 es una citoquina que ejercer una reacción antiinflamatoria, bloquea la acción de la citoquina IL-1, promueve el establecimiento de una respuesta inmune de tipo humoral estimulando de esta forma el crecimiento y diferenciación de los linfocitos B.(35)

IL-5: interleuquina-5 encargada de la diferenciación de los linfocitos B y producción de IgA. Crecimiento, diferenciación, supervivencia, migración y activación de los eosinófilos.(36)

IL-6: interleuquina-6 es una glucoproteína encargada de la activación de los linfocitos T y B.(36)

IL-9: interleuquina-9 es la encargada de estimular la producción de IgE, eosinofilia, mastocitosis e hiperplasia de las células caliciformes.(37)

IL-10: interleuquina-10 provoca la inhibición de los linfocitos T para la vía Th1. Inhibición de la liberación de citoquinas por parte de los macrófagos y también es la encargada del crecimiento de los mastocito.(38)

IL-13: interleuquina-13 se encarga de la producción de IgE, provoca también la hiperplasia de las células caliciformes como también la contracción de la musculatura lisa.(39)

Th2-type: linfocitos T cooperadores o linfocitos T CD4+ induce la función efectora en los fagocitos (Mastocitos, eosinófilos, basófilos, monocitos).

H-2^a/ H-2k: prototipo encargado de estimular el sistema inmune.

Th 17: linfocitos T *helper* 17 son una subpoblación proinflamatoria de linfocitos CD4+, que se encarga de producir IL-17, IL-21 e IL-22, actúa como una respuesta antimicrobiana, principalmente en el sistema gastrointestinal, donde promueven la restauración de la mucosa. Favorecen la respuesta inflamatoria y el reclutamiento de neutrófilos.(40)

IFN- γ : interferón – gamma, implicado en la regulación de la respuesta inflamatoria e inmune.(41)

Th2 modificada: inmunidad tipo 2 humoral o linfocitos T cooperadores: ayuda para el cambio de clase de isotipo de los linfocito B y en la activación alternativa de los macrófagos.

IL-12: La interleucina-12 es una citocina proinflamatoria, encargada de activar las células T colaboradoras, estimula la producción de interferón y la activación de células NK.

TNF α : factor de necrosis tumoral alfa: activación y diferenciación de monocitos, inducción de la diferenciación de precursores inmaduros a monocitos, aumenta la actividad parasiticida y bactericida de los macrófagos al inducir una inmunidad.(42)

TGF- β : factor de crecimiento transformante: estimula la quimiotaxis hacia los fibroblastos y aumenta la expresión de colágeno, además disminuye la actividad de las proteasas de la matriz extracelular y aumenta las actividades inhibitoras de proteasas,(43)

L1: calprotectina-1: antígeno común específico.

L2: calprotectina-2: antígeno común específico.

T CD4 +: linfocitos: que ayudan a coordinar la respuesta inmunitaria al estimular a otros inmunocitos, como los macrófagos, los linfocitos B para producir anticuerpos y los linfocitos T CD8 para combatir la infección.(44)

T CD8: células citolíticas o glicoproteína: ayudan con las interacciones citotóxicas de antígenos de células T y participan en la señalización de células T.(38)

Th: linfocitos T colaboradores

Th: linfocitos efectores: secretan citoquinas, proteínas o péptidos que estimulan o interaccionan con otros leucocitos, incluyendo linfocitos Th.

Th: linfocitos de memoria: retienen la afinidad por el antígeno de la célula T activada original, y son usados para actuar más tarde como células efectoras durante una segunda respuesta inmunitaria.(45)

Ig: inmunoglobulinas: encargadas de reconocer el antígeno introducido o administrado en el organismo.

CD: células dendríticas: son funcionalmente las inductoras más potentes de la activación y proliferación de linfocitos T a los que presentan antígenos.(46)

Sm14: proteína de 14kDa que une ácidos grasos (FABP), involucrada en funciones de absorción, transporte y compartimentación de estas biomoléculas.

10.8 INMUNIDAD

Se refiere a la protección contra enfermedades infecciosas, la capacidad del organismo para resistir y sobreponerse a una infección, describe el estado de tener suficientes defensas biológicas es un estado de resistencia que tienen los diferentes organismos frente a la acción patógena de microorganismos como bacterias, parásitos, toxinas o sustancias extrañas dicho estado puede ser natural o adquirido.(47)

10.9 Respuesta inmunitaria

Mecanismo de defensa del organismo contra sustancias que considera dañinas o extrañas, durante esta respuesta el sistema inmunitario reconoce y ataca los antígenos superficiales de sustancias o microorganismos, como bacterias, virus, toxinas de manera que los ataca y en ocasiones los destruye, la respuesta inmune puede incluir inmunidad contra microorganismos patógenos en este proceso, las principales células involucradas son las células T las células B y los macrófagos células encargadas de activar a las células T auxiliares logrando producir una respuesta inmunitaria rápida reconociendo al antígeno y recordando cuando se expone a la misma infección.(48)

10.10 Inmunidad parasitaria

La implementación de la inmunidad parasitaria requiere de elementos como (antígenos, anticuerpos, receptores de células T, proteínas de histocompatibilidad, complejos de diferenciación, linfocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, citoquinas) que ejercen funciones promotoras, reguladoras o efectoras.(49)

Cuando hablamos de inmunidad parasitaria nos referimos a que el parásito trata de evitar el efecto de las moléculas y células efectoras del sistema inmunitario del hospedero (anticuerpos, citosinas, linfocitos citotóxicos entre otros) y por el otro lado, el hospedero trata de destruir al parásito.

10.11 Inmunidad frente a trematodos

Los trematodos son parásitos que se han adaptado evolutivamente al parasitismo. Esta adaptación ha implicado enfrentarse al sistema inmunitario para superarlo o evadirlo. Tienen una inmunidad cruzada entre ellos estas reacciones se utilizan para preparar antígenos.(50)

Salvo excepciones, debido a mayor exposición, mayor susceptibilidad del huésped o menor resistencia, la mayoría de los huéspedes albergan pocos gusanos, casi siempre producen enfermedad leve o subclínica, ocasionan morbilidad, no mortalidad.

10.12 Inmunidad humoral

Es uno de los mecanismos principales de defensa contra los microorganismos extracelulares y sus toxinas, además de reconocer a los antígenos, además que los anticuerpos que genera, pueden neutralizar la capacidad de infección de los microorganismos, marcando así a los patógenos para facilitar su eliminación.

Esta inmunidad humoral esta mediada por las células B, encargadas de generar anticuerpos específicos en el organismo en el cual se produce una diferenciación en el plasma y en las células memorizadoras que se encuentran de forma libre en diferentes líquidos corporales alcanzando concentraciones altas en la sangre, teniendo la capacidad de fijar antígenos específicos como precipitinas, aglutininas, opsoninas y anticuerpos fijadores del complemento, neutralizantes y citofilos.(51)

10.13 Inmunidad mediada por células

La inmunidad mediada por células se desencadena cuando una célula presentadora de antígenos (APC) presenta un antígeno que es reconocido por un linfocito T específico, mediada también por los macrófagos, (52) es un tipo de defensa frente a un invasor, induciendo a la destrucción del microorganismo en el residente en los fagocitos o de las células infectadas, es una forma de respuesta inmunitaria de selección natural que está mediada por los linfocitos T, el que actúa como mecanismos de ataque en contra de los microorganismos intracelulares ya sean estos algunas bacterias o virus que sean capaces de sobrevivir.(53)

11 INMUNOGLOBULINAS

Son un conjunto de glucoproteínas producidas por células o linfocitos B que son las células plasmáticas que circulan en el torrente sanguíneo encargadas de sintetizar anticuerpos, están básicamente formadas por cuatro cadenas polipeptídicas dos pesadas que está formada por una parte variable (VH) y tres (IgG e IgA) o cuatro (IgM e IgE) constantes (CH1, CH2, CH3 Y CH4) y dos ligeras están formadas por dos dominios una variable (VL) y una constante (CL). (54)

Las inmunoglobulinas funcionan como, la parte específica del complejo de las células B, a nivel de membrana, que reconoce al antígeno; moléculas circulantes, es decir anticuerpos secretados por las células plasmáticas procedentes de activación, proliferación y diferenciación de células B. Entre las principales inmunoglobulinas identificadas en las diferentes especies de animales son: IgA, IgG, IgM, IgD, IgE. (55)

- **IgA:** Es producida por las células plasmáticas localizadas bajo las superficies corporales (paredes del intestino, tracto respiratorio, sistema urinario, piel y glándulas mamarias).(56)

A este tipo de inmunoglobulinas se las considera como protectoras de la superficie de contacto del organismo con el exterior, están presentes en la placenta y en la leche materna produciendo inmunidad pasiva al feto o al lactante.

- **IgG:** Son las predominantes en el suero y el espacio extravascular, se sintetizan por las células plasmáticas del bazo, los nódulos linfáticos y la médula ósea siendo la inmunoglobulina que alcanza mayor concentración en la sangre quien

desempeña la función primordial de la defensa mediada por anticuerpos, así como la única inmunoglobulina que atraviesa la placenta. (54)

- **IgM:** Está producida por las células plasmáticas en los órganos linfoides secundarios, también son considerados como los primeros anticuerpos que se producen durante la respuesta primaria de anticuerpos, siendo capaz de activar al complemento, que sirven como la primera línea de defensa en casos de septicemia (envenenamiento de la sangre); son moléculas largas que permanecen en la sangre y protegen al animal de invasiones bacterianas. (57)
- **IgD;** Es el principal receptor de antígenos en las membranas de los linfocitos B y se secreta en cantidades insignificantes, las IgD están presentes en equinos, bovinos, ovinos, porcinos, caninos, pero no se ha evidenciado su presencia en lagomorfos y felinos, también se ha logrado evidenciar en muchas aves pero menos en pollos. (58)
- **IgE:** Este tipo de inmunoglobulina está implicada en procesos de alergias uniéndose a los basófilos (glóbulo blanco) en el torrente sanguíneo y a los mastocitos en los tejidos, cuando los basófilos o los mastocitos con IgE unidos, se encuentran con algún alérgeno dan origen a la liberación de sustancias, como la histamina, que producen inflamación y dañan los tejidos circundantes. lo que quiere decir que al momento de que ingresa un alérgeno al organismo, este activa a los linfocitos T encargados de identificar el alérgeno y enviar señales (mediadores químicos) a las células B que están formadas especialmente por las células plasmáticas que son las encargadas de producir anticuerpos.(59)

12 PATOGENIA

12.1 Fascioliasis o Distomatosis:

Especies afectadas: es una enfermedad zoonótica que afecta a bovino, ovino, caprino y porcino

Se producen en presencia de: Fasciola hepática, F. gigantea que es zoonosis parasitaria.

La respuesta inmune específica frente a esta enfermedad es la Th2 donde induce una respuesta inmune mediada por células (respuesta celular) Th1 y la producción de

anticuerpos específicos (respuesta humoral) Th2 que son reconocidos mediante pruebas inmunológicas, provocando que los niveles de inmunoglobulinas (Ig): IgG, IgM e IgE estén generalmente aumentadas; En lo que a la clase IgG se refiere, la IgG4 se presenta como el isotipo predominante demostrando la presencia de anticuerpos precipitantes, aglutinantes y fijadores del complemento.(60)

Donde El sistema inmune está regulado por el balance de las citoquinas secretadas por los linfocitos y macrófagos y una división funcional de los linfocitos T colaboradores (T-Co) CD4 +, la subpoblación Tco-1 secreta interleucina (IL) 1(IL-1), IL-2 e interferón gamma (IF- γ), estimuladores de la inmunidad celular, la subpoblación Tco-2, en cambio, secreta IL-4, IL-5 e IL-10 e induce la síntesis de inmunoglobulinas (Ig) específicas, incluso la IgE y promueve la eosinofilia. Se sabe que los granos de los eosinófilos descargados sobre la membrana de la Fasciola tienen efecto parasiticida. La vacunación con cercarias atenuadas ha provocado protección parcial significativa, particularmente cuando se aplica junto con la IL-2, producto que suprime las respuestas de los Tco-2, por tanto, se abaten los niveles de IL-4 e IL-14 y se disminuye la cuenta de los eosinófilos.(61)

12.2 Paramphistomosis

Especies afectadas: es una enfermedad zoonótica que afecta a bovino, ovino, caprino y porcino

Se producen en presencia de: *Paramphistomum cervi*

La respuesta está mediada en el epitelio de las papilas donde se fija el parásito esta inmunidad puede estar polarizada hacia una reacción proinflamatoria (Th1) o inmunomoduladora (Th2) donde se puede llegar a evidenciar una fuerte inmuno reactividad frente al complejo citosólico proteico L1 o calprotectina (MAC387+), a diferencia de la escasa o nula positividad observada en otras papilas filiformes de mayor tamaño del rumen o de los pliegues mayores del retículo, además de la inmunotinción frente a calprotectina, el epitelio de revestimiento de las papilas donde se fija el parásito mostró positividad con el anticuerpo monoclonal frente a IFN- γ , dando como resultado una respuesta inmunitaria local del epitelio ante la presencia de antígenos del trematodo mediada por la acción del IFN- γ .(62)

12.3 Dicroceliosis

Especies afectadas: es una enfermedad zoonótica que afecta a bovino, ovino, caprino, porcino y a muchos rumiantes, ocasionalmente a perros y gatos y otros carnívoros.

Se produce en presencia de: *Dicrocoelium dentriticum*

Está representada por una inmunidad orientada con la presencia de eosinófilos y mastocitosis, células inflamatorias que provocan la activación del sistema inmunitario, posiblemente relacionadas con la presencia de antígenos de superficie del parásito o productos de E/S. Los eosinófilos son células capaces de adherirse a la superficie del parásito, liberando una serie de productos presentes en sus gránulos que actúan directamente sobre los helmintos además de citoquinas que promueven una mastocitosis local, los eosinófilos se observan en gran número y posiblemente participan en la eliminación del parásito donde los mastocitos tras su degranulación, provoca una reacción de hipersensibilidad tipo I, caracterizada por un incremento de la permeabilidad vascular y de la contracción de la musculatura lisa, cuya acción se dirige a la expulsión del parásito generando así una inmunidad Th2.(63)

12.4 Esquistosomiasis intestinal

Especies afectadas: es una enfermedad zoonótica que afecta a conejos y ocasionalmente a perros

Se produce en presencia de: *Schistosoma monsoni*

La primera respuesta inmune adaptativa que se induce está polarizada hacia un perfil de citoquinas pro-inflamatorias Th1 en el transcurso de la infección, la respuesta inmune progresa a través de dos fases. En las primeras 3-5 semanas (fase aguda), durante las cuales el hospedador está expuesto a los parásitos inmaduros que migran por el cuerpo, la respuesta dominante es del tipo Th1. A medida que los parásitos maduran, se aparean y comienzan a producir los huevos, entre la 5ta y 6ta semana, la respuesta inmune cambia notoriamente hacia una respuesta del tipo Th2 antiinflamatoria donde los esquistosomas son capaces de generar respuestas inmunitarias eficaces para el control de la infección. Se ha comprobado que generan anticuerpos de los isotipos IgG2, IgG4 o IgM que actúan bloqueando la citotoxicidad antiparasitaria mediada por IgE, IgG1 o IgG3.(64)

12.5 Fascioloides Magna

Especies afectadas: es una enfermedad zoonotica que afecta a bovino, ovino y equino

Se produce en presencia de: *Fasciola magna*

Induce una respuesta Th2 respuesta inmunitaria tipo 2 humoral polarizada, relacionada con la producción de IL-4 y con una temprana respuesta Th1 con producción de IFN- γ , cuando la respuesta Th1 va disminuyendo, las citoquinas de perfil Th2 aumentan y esto supone una reducción en la carga parasitaria, en las infecciones por helmintos hay una preferencia en la respuesta inmunitaria hacia la producción de IgE por lo que la liberación de IgE e IgG es el principal mecanismo para lograr la eliminación de los helmintos.(65)

12.6 Paragonimiasis

Especies afectadas: es una enfermedad zoonotica que afecta a gatos, perros

Se produce en presencia de: *Paragonimus westermani*

La respuesta del hospedero involucra, principalmente, las células y moléculas involucradas en una respuesta inmune Th2, incluyendo a células efectoras tales como los eosinófilos. La eosinofilia, donde se ha atribuido a los eosinófilos el efecto proinflamatorio, así como mecanismos para modular los procesos inmunes.(66)

La respuesta inmunológica predominante en la infección por *Paragonimus westermani* es generada por linfocitos Th2 con altos niveles de citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, así como aumento de anticuerpos del isotipo IgE y el predominio de eosinófilos células que además de actuar en la defensa del hospedero, realizan acciones antiinflamatorias y reparadoras de tejidos, estimulando también que las IgG e IgM se eleven generando una inmunidad humoral protectora.(67)

12.7 Fasciolopsiasis

Especies afectadas: es una enfermedad zoonotica que afecta a porcino, ovino, bovino, caprino.

Se produce en presencia de: *Fasciolopsis buskii*

Se han caracterizado las siguientes respuestas inmunológicas en relación con las diferentes fases de la infección: a) altos niveles de IgE, IgG1 e IgG4 y bajos de IgA, IgG2a e IgG3 en fase aguda; b) incremento en los niveles de IL-10, IFN- γ TNF- α en fase aguda, en fase crónica siguen elevados los niveles de IL-10 y TNF- α pero disminuyen los de IFN- γ ; y c) la cooperación entre células B, Th1, Th2 y macrófagos aumentan la capacidad inmune del hospedador en la fase aguda de la enfermedad; por el contrario, en la fase crónica aumentan los mecanismos de evasión parasitaria, con reducción de respuestas Th1 y predominio de Th2 antígeno presentado por células dendríticas linfoides o plasmocitoides y por macrófagos, se induce una respuesta Th2, mediante la secreción de IL-4 y se produce una coestimulación a partir de CD86, las células Th2 van a secretar IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Estas citoquinas de respuesta Th2 promueven la proliferación de linfocitos B así como la secreción de inmunoglobulinas, aumentando la producción de IgG1 e IgA y la producción de IgE dando como lugar a la eliminación de los parásitos en diferentes fases de desarrollo, donde también actúan los mastocitos, eosinófilos células capaces de adherirse al parásito promoviendo una mastocitosis local logrando así la eliminación del parásito al exterior.(68)

12.8 Fasciolosis

Especies afectadas: es una enfermedad zoonótica que afecta a ovino, bovino, caprino, equino.

Se produce en presencia de: *Fasciola magna*

Presenta una respuesta inmune general que se cataloga como “Th2-like”. Se caracteriza por tener altos niveles de citoquinas propias del perfil Th2 sumada a la proliferación de linfocitos T reguladores, macrófagos activados de forma alternativa y secreción de IL-10 y TGF- β . A pesar de ser una respuesta muy eficiente para contener al parásito, rara vez es capaz de eliminar completamente la infección causada por este parásito. (69)

La respuesta inmunitaria tipo Th2 frente a fasciolosis se caracteriza por el aumento de células T CD4+ que secretan citocinas como la IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13; además, los eosinófilos, células cebadas y basófilos, se incrementan en la sangre y en el sitio de infección. Cabe destacar que la característica principal es la gran cantidad de IgE que se

detecta en los animales infectados por helmintos. En cuanto a las citocinas señaladas, la IL-4 constituye el principal estímulo para la producción de IgE y para el desarrollo de células Th2 a partir de células cooperadoras vírgenes T CD4+.7 La IL-5 es un activador de eosinófilos y también funciona como enlace entre la activación de células T y la inflamación eosinofílica. La IL-13 es una citocina similar a la IL-4 y desempeña un papel importante en la respuesta inmunitaria contra helmintos. La IL-10 es una citocina que actúa sobre macrófagos y células dendríticas que inhibe la producción de IL-12, la expresión de coestimuladores y de moléculas de clase II del complejo principal de histocompatibilidad (CPH). La inmunidad Th2 en el tracto digestivo induce la producción de células T reguladoras que pueden controlar células T autorreactivas, lo que, desde el punto de vista funcional, puede limitar la inflamación causada por este parásito.(70)

13 LAS VACUNAS DE PARÁSITOS TREMATODOS YA REALIZADAS

13.1 La vacuna cisteína proteinasas contra el trematodo Fasciola hepática

En el caso de la Fasciola hepática, sobre todo, al hallazgo de una vacuna eficaz para solventar los problemas surgidos por este parásito, en un estudio reciente realizado por la Universidad Autónoma Metropolitana encontraron que las cisteína proteinasas del helminto son candidatos importantes para antígenos de vacunas para la Fasciolosis debido a su papel en las relaciones hospedero-parásito, descubriendo así que una cisteína proteinasa recombinante clonada de F. hepática (CPFhW) de bovinos y ovinos puede proteger a los animales contra las infecciones del agente, al contrario que en otros rumiantes, como en la especie caprina se han realizado escasos estudios sobre las lesiones y la respuesta inmunitaria.(71)

La vacuna cisteína proteinasas contra el trematodo Fasciola hepática, enzimas que degradan las proteínas del propio parásito ha demostrado ser eficaz, para diferentes especies especialmente para bovinos y ovinos.

13.2 La vacuna Sm14 contra el trematodo Schistosoma monsoni

Estudios recientemente en Brasil, un consorcio liderado por la Fundación Oswaldo Cruz desarrolló una vacuna contra el parásito Schistosoma monsoni, a partir de la Sm14 que es una proteína de 14 kDa que une ácidos grasos (FABP), involucrada en funciones de

absorción, transporte y compartimentación de estas biomoléculas, y ha resultado ser el antígeno candidato para el desarrollo de una vacuna eficaz frente a *Schistosoma mansoni*, que formulado con el adyuvante glucopiranosil lípido A (GLA-SE), a nivel de respuesta humoral y celular, la vacuna resultó inmunogénica, observando un aumento progresivo de anticuerpos IgG y un aumento en la inducción y liberación de citocinas IL-2, IL5, IFN, TNF, también se observó un aumento en la estimulación de células que liberaban el IFN- γ era mayor, lo que indica que el antígeno aumentaba las respuestas celulares. (72)

La Sm14 es una proteína recombinante los mismos ejes inmunógenos donde se ha demostrado proteger contra la Esquistosomiasis intestinal en bovinos, ovinos, conejos y demás rumiantes con una eficiencia cercana a 100 %.

13.3 La vacuna CL1 contra el trematodo *Fasciola magna*

El antígeno recombinante catepsina L1 (rCL1) de *Fasciola magna* estudiado por la Universidad de Córdoba desarrollo una inmunización con CL1 enzimas proteolíticas donde se ha demostrado niveles de protección frente a *Fasciola magna* de entre el 38,5-69% en vacuno y hasta el 60% en ovinos al combinarse con CL2. En los estudios más recientes han demostrado una protección significativa mostrando menores lesiones hepáticas, mayor ganancia de peso, y disminución del número de parásitos del 33%, con vacunas de ADN de catepsina L1 han inducido protección significativa en rumiantes. (73)

Donde las enzimas proteolíticas han demostrado tener una protección significativa para proteger contra la Fascioloides en bovinos, ovinos y demás.

14 TREMATODOS

Son una clase de filo de gusanos platelmintos conocidos como duelas o gusanos aplanados que afecta directamente a varias especies de animales e incluso al hombre, posee un cuerpo no segmentado de forma filiforme, que presentan un tubo digestivo incompleto y una o dos ventosas, su tamaño varía entre uno y varios centímetros de longitud, es uno de los parásitos que posee los dos aparatos reproductores (hermafroditas) pero generalmente carecen de ano. (74)El aparato sexual masculino consta de dos testículos los cuales se encargan de llevar su material espermático hasta el órgano copulador o cirro. El aparato

reproductor femenino consta de sus ovarios, oviducto, receptor seminal y un canal estrecho que se abre en la superficie del cuerpo llamado conducto de Laurer, esta ayuda en la receptibilidad del producto seminal con la unión de sus fetos en la ovulación. (75)

La mayoría de los trematodos tienen ciclos de vida complejos que afectan a varias especies, en estado adulto son endoparásitos de vertebrados o invertebrados, donde se produce la reproducción sexual y en estado larvario los son de moluscos gasterópodo de hábitos acuáticos o terrestres donde se produce la reproducción asexual y, a veces necesita de un tercer hospedador.(76)

Tabla 1 Principales parásitos *Trematodos* que afectan a las diferentes especies animales

ESPECIE	PARASITO
BOVINO	<i>Fasciola Hepática, Fasciola Gigantica, Paramphistomum Cervi, Dicrocoelium Spp, Schistosoma Monsoni, Fascioloides Magna, Paramphistomum Liorchis, Paramphistomum Gracile, Paramphistomum Epiclitum, Paramphistomum Gotoi, Paramphistomum Ichikawai, Explanatum Bathiocotyle, Explanatum Anisocotyle, Cotylophoron Jacksoni, Cotylophoron Panamense, Cotylophoron Macrosphinetris, Calicophoron Clavula, Calicophoron Sukani, Calicophoron Daubneyi, Orthocoelinae, Orthocoelinae Streptocoelium, Orthocoelinae Narayanai, Leiperocotyle Gretillati, Bitalorchis, Palamphistomum Dutri, Palamphistomum Lobatum, Eurytrema Pancreaticum.</i>
OVINO	<i>Dicrocoelium spp, Fasciola hepática, Fasciola gigantica, Fascioloides magna , Paramphistomum spp, Fasciolopsis buskii , Schistosoma spp, Cotylophoron, Orthocoelinae streptocoelium, leiperocotyle gretillati, Eurytrema pancreaticum, Calicophoron daubneyi, Paramphistomum liorchis, Bitalorchis, Palamphistomum dutri, Palamphistomum lobatum.</i>
CAPRINO	<i>Dicrocoelium chinensis, Fasciola hepática, Fasciola gigantica., Fascioloides magna, Paramphistomum spp, Schistosoma capri, Cotylophoron panamense, Cotylophoron macrosphinetris, Calicophoron clavula, Paramphistomum liorchis, Paramphistomum gracile, Paramphistomum epiclitum, Paramphistomum gotoi, Eurytrema pancreaticum.</i>

PORCINO	<i>Fasciolopsis buskii</i> , <i>Metorchis orientalis</i> , <i>Dicrocoelium dendriticum</i> , <i>Fasciola hepática</i> , <i>Fasciola gigantica</i> , <i>Brachylaemus erinacei</i> , <i>Echinochasmus suis</i> , <i>Gastrodiscoides homonis</i> , <i>Gastrodiscus aegyptiacus</i> , <i>Melagonimus yokogawai</i> , <i>Opistorchis tenuicollis</i> , <i>Paragonimus westermanii</i> , <i>Clonorchis sinensis</i> , <i>Eurytrema pancreaticum</i> .
EQUINO	<i>Dicrocoelium spp.</i> , <i>Fasciola hepática</i> , <i>Fasciola gigantica</i> , <i>Gastrodiscus secundus</i> , <i>Pseudodiscus</i> , <i>Pseudodiscus collinsi</i> , <i>Gastrodiscus aegyptiacus</i> , <i>Paramphistomum</i> .
CANINO	<i>Echistosoma canis</i> , <i>Paragonimus westermani</i> , <i>Opisthorchis</i> , <i>Schistosoma spp</i> , <i>Fasciola hepática</i> , <i>Dicrocoelium spp</i> , <i>Haplorchis taichui</i> , <i>Opisthorchis felineus</i> , <i>Opisthorchis tenuicollis</i> , <i>Opisthorchis tenuicollis</i> , <i>Metorchis bilis</i> , <i>Pseudamphistomum truncatum</i> , <i>Platynosomum fastosum</i> , <i>Metagonimus yokogawai</i> , <i>Nanophyetus salmincola</i> , <i>Apophallus donicus</i> , <i>Eryptocotyle lingua</i> , <i>Eupayphium melis</i> , <i>Echinochasmus perfoliatus</i> .
FELINO	<i>Clonorchis sinensis</i> , <i>Opisthorchis felineuss</i> , <i>Metagonimus yokogawai</i> , <i>Fasciola hepatica</i> , <i>Dicrocoelium spp</i> , <i>Opisthorchis felineus</i> , <i>Opisthorchis tenuicollis</i> , <i>Opisthorchis tenuicollis</i> , <i>Metorchis bilis</i> , <i>Pseudamphistomum truncatum</i> , <i>Platynosomum fastosum</i> , <i>Metagonimus yokogawai</i> ,, <i>Nanophyetus salmincola</i> , <i>Apophallus donicus</i> , <i>Eryptocotyle lingua</i> , <i>Eupayphium melis</i> , <i>Echinochasmus perfoliatus</i> , <i>Platynosomum concinnum</i> , <i>Heterophyidae</i> , <i>Alaria spp</i> .
COBAYO	<i>Fasciola hepatica</i> , <i>Fasciola gigantica</i> , <i>Dicrocoelium dendriticum</i>
LAGOMORFO	<i>Fasciola hepatica</i> , <i>Fasciola gigantica</i> , <i>Dicrocoelium dendriticum</i>

CAMELIDOS SUDAMERICANOS	<i>Fasciola hepática , Fasciola gigantica, Fascioloides magna</i>
GALLINAS	<i>Schistosoma revolutun, Ribeiroia ondatrae, Helisoma australorbis, Schistosoma trivolvis, Schistosoma cloropodis, Echinoparyphium, Echinoparyphium recurvatum, Echinoparyphium paraulum, Hypderaeum conoideum, Planorbis, Apatemon gracilis, Strigea strigi, Strigea falconis, Strigea abilgaard, Apatemon gracilis, Plagiorchis megalorchis, Postharmostomum commutatus, Opistorchis, Psiltrema simillimum, Ornithotrema momoti.</i>
PATO	<i>Echinostoma revolutum, Echinoparyphium recurvatum, Hypderaeum conoideum, Planorbis, Apatemon gracilis, Strigea strigi, Psiltrema simillimum, Ornithotrema momoti, Typhlocoelum cucumerinum, Zygotyle lunata , Psilostomun ondatrae, Prosthogonimus spp, Prosthogonimus pellucidus.</i>
GANSO/PAVO	<i>Prosthogonimus spp, Prosthogonimus ovatus, Prosthogonimus pellucidus, Pygidiopsis summa, Prosthogonimus pellucidus.</i>

15 CENTRO NACIONAL PARA LA INFORMACIÓN BIOTECNOLÓGICA (NCBI)

Base de datos que contiene los nombres de todos los organismos que se encuentran representados en todas las bases de datos genéticas agrupando sus bases esenciales en tres grandes sectores: Literature Databases, Molecular Databases y Genomes, la información contenida en estas bases de datos comprende: funciones, estructurales y localización (tanto celular como cromosómica).(77)

15.1 Diversas responsabilidades de la base de datos 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. (77)

16 VALIDACIÓN DE LAS PREGUNTAS CIENTIFICAS

1. ¿Cómo se relaciona la secuencia genética de los parásitos (*Trematodos*) con la elaboración de vacunas de ADN?
2. ¿Cuáles son los parásitos (*Trematodos*) en los que se han realizado investigaciones para encontrar la secuencia genética?
3. ¿Cuáles son los genes relacionados con la inmunidad, reportados de los parásitos (*Trematodos*) de diferentes especies animales en la base de datos de la secuencia genética?

17 METODOLOGÍAS

17.1 Tipo de Investigación

- **Documentales:** Aquellas que recopilan información acudiendo a fuentes previas, como investigaciones, libros, artículos científicos, revistas, sitios web, tesis doctorales, información en soportes diversos donde se emplea instrumentos definidos según dichas fuentes, añadiendo así conocimiento a lo ya existente sobre el tema de investigación. Como se menciona en esta técnica se realizó la respectiva revisión y recopilación de datos importantes, los cuales ayudaron a la elaboración de la base de datos de la secuencia genética de los parásitos *Trematodos* de las distintas especies animales domésticas.

17.2 Métodos

- **Analítico:** Este método “consiste en la extracción de las partes de un todo, con el objeto de estudiarlas y examinarlas por separado, para ver, por ejemplo, las relaciones entre éstas”, es decir, es un método de investigación, que consiste en descomponer el todo en sus partes, con el único fin de observar la naturaleza y los efectos del fenómeno. Sin duda, este método puede explicar y comprender mejor el fenómeno de estudio, además de establecer nuevas teorías. Se procedió a la investigación de cada uno de los parásitos trematodos de las especies domésticas, y así poderlos distribuir por especies con la información de su respectivo gen identificado y analizado por el Centro Nacional para la Información Biotecnológica NCBI.

17.3 Técnicas

- **Ficha Bibliográfica:** Este tipo de técnica se usó, para realizar la respectiva investigación por medio de libros, revistas electrónicas, artículos científicos, tesis doctorales de los cuales se saca la información más importante para de esta manera recopilarla.
- **Ficha de Información Electrónica:** De igual manera en este trabajo se realiza la investigación por medio de libros electrónicos, revistas académicas, de las cuales se recopilara la información necesaria para obtener información amplia sobre el tema en estudio, para de ahí empezar a armar la base de datos de las secuencias genómicas de los parásitos *Trematodos*, luego de tener la información necesaria y

clasificada adecuadamente por especie se puede saber que parásitos ya poseen la información, de las cuales servirá de gran ayuda a científicos, docentes, estudiantes, biotecnólogos, etc. Para lograr elaborar vacunas que combatan contra estos parásitos, mientras que aquellos parásitos que no tienen disponible esos datos, ayudará de igual manera a docentes, investigadores, estudiantes, etc. A realizar en un futuro el estudio de sus secuencias genómicas y ampliar la información con respecto de las secuencias genómicas parasitarias de *Trematodos*.

18 ANÁLISIS DE RESULTADOS

18.1 Parásitos trematodos en Bovinos.

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los bovinos son 27 siendo los más frecuentes *Fasciola hepática*, *Fasciola gigantica*, *Paramphistomum cervi*, *Dicrocoelium spp*, *Schistosoma monsoni*, *Fascioloides magna*, de los cuales se encontró estudios de 3 parásitos que han sido investigados, sus genes y su respectiva inmunidad, estos genes son: Th0 (linfocitos colaboradores de generar una respuesta inmunitaria) y Th2 (respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral), Th2-type (respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral,) H2a / H2k (moléculas de histonas). (David. P., 2003 2008)(78), determinaron que el gene Th0 y Th2 linfocitos colaboradores que generar una respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral en *Fasciola hepática* se encuentra en el tejido del hígado y su presencia está relacionada con la respuesta inmunitaria a: Mastocitos, eosinófilos, IFN- γ en donde menciona que los mastocitos son los encargados de la defensa contra infestaciones parasitarias dentro del animal en cambio los eosinófilos se encargan de regular la respuesta a reacciones de hipersensibilidad y una rápida producción del interferón - gamma (IFN- γ) encargado de permitir la activación de los macrófagos aumentando la capacidad fagocitaria en la respuesta inmunitaria en los tejidos durante la infección. (Hany M., 2017)(79), determinó que el gene Th2-type respuesta inmunitaria de tipo 2 o humoral, en *Fasciola gigantica* se localiza en el tejido del parénquima hepático y la vesícula biliar observando así que su presencia está relacionada con la respuesta a: Citocinas pequeñas proteínas que se encargan de controlar el crecimiento y la actividad de otras células del sistema inmunitario y las células sanguíneas permitiendo así aumentar que el organismo animal adquiera mayor inmunidad y capacidad para eliminar al parásito

infestaste, (Kaji R., 1982)(80) determinó que el gene H-2a / H-2k moléculas de histona son las encargadas de generar respuesta inmunitaria celular, en *Schistosoma monsoni* se generan antígenos en el tejido de los vasos sanguíneos y su presencia está relacionada con la respuesta a: Citoquinas, proteínas encargadas de inducir la activación de receptores logrando la maduración de las células del sistema inmunitario en el animal, provocando que las Interleuquina 4 (IL4) proteína encargada de regular la activación de las células del sistema inmune aumenten y se presenten anticuerpos relacionados con IgG e IgE.

De acuerdo al análisis realizado se determinó que el gen Th0 y Th2 siendo estos genes candidatos para la producción de vacunas de ADN ya que su influencia está dada por desarrollar una respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral, con la producción de citoquinas IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. Estas citoquinas cooperan con las células B e inducen una respuesta humoral (proliferación de linfocitos B, transformación en células plasmáticas que sintetizan y liberan diferentes inmunoglobulinas por lo tanto sería recomendable enfocarse en estos genes para la creación de una vacuna de ADN.

Por ultimo a través de la investigación que se realizó, se puede mencionar que para *Paramphistomum cervi*, *Dicrocoelium spp*, *Fascioloides magna*, *Paramphistomum liorchis*, *Paramphistomum gracile*, *Paramphistomum epiclitum*, *Paramphistomum gotoi*, *Paramphistomum ichikawai*, *explanatum bathiocotyle*, *explanatum anisocotyle*, *Cotylophoron jacksoni*, *Cotylophoron panamense*, *Cotylophoron macrosphinetris*, *Calicophoron clavula*, *Calicophoron sukani*, *Calicophoron daubneyi*, *Orthocoelinae*, *Orthocoelinae streptocoelium*, *Orthocoelinae narayanai*, *leiperocotyle gretillati*, *Bitalorchis*, *Palamphistomum dutri*, *Palamphistomum lobatum*, *Eurytrema pancreaticum* todavía no se ha reportado estudios relacionados con los genes e inmunidad, por tal motivo queda con constancia los parásitos que aún necesitan ser estudiados e investigados y posteriormente contribuir con la información necesaria para la creación de vacunas de ADN.

Tabla 2 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en bovinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Bovino	<i>Fasciola hepática</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2, IFN- γ , CL5, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13	Hígado	Mastocitos, eosinófilos,	David. P., 2003 2008
	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	<i>Paramphistomum cervi</i>	NC_023095.1	Alemania				
	<i>Dicrocoelium spp</i>	NC_025280.1	Qinghai, China				
	<i>Schistosoma monsoni</i>	NC_031501.1	Puerto rico	H-2a / H-2k, IL4, IL5	Vasos sanguíneos	Citoquinas	Kaji R., 1982
	<i>Fascioloides magna</i>	NC_029481.1	Uruguay				

18.2 Parásitos *Trematodos* en ovino

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los ovinos encontramos 16 tipos siendo los más frecuentes *Dicrocoelium spp*, *Fasciola hepática*, *Fasciola gigantica*, *Fascioloides magna*, *Paramphistomum spp*, *Fasciolopsis buskii*, *Schistosoma spp*, de aquellos encontramos información de 3 parásitos que se han sido investigados sus respectivos genes, relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th 2 (respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral) Th 1 (respuesta inmunitaria mediada por células), Th 17, IL4 (interleuquinas-4) IFN- γ (Interferón Gamma), Th1 / Th2 modificada y Th17 (linfocitos T helper 17), IL-12 (interleuquina-12), TNF α (Factor de Necrosis Tumoral Alfa), TGF β (Factor de Crecimiento Transformante Beta) o Arg-1. (Naser Morgan Azghadi., 2013)(81), determino que tras tener una respuesta inmunitaria tipo 1 o celular y una respuesta inmunitario tipo 2 humoral en *Dicrocoelium spp* se genera antígenos que se detectan en los Conductos biliares y vesícula biliar la cual produce que el factor, interferón-gamma (IFN- γ) y diversas interleuquinas (IL): IL-2, IL-3, IL-12, encargadas de estimular la producción de IgG y activar al sistema inmune, así como también a los linfocitos B y T los cuales activan al complemento por la vía clásica y promueven la fagocitosis de los microorganismos. Además también liberan IFN- γ que aumenta la actividad citocida y microbicida promoviendo así una inmunidad mediada por células contra los patógenos

extracelulares como son los Trematodos, (Pérez et al., 2002)(82)determino que en *Fasciola hepática* tiene genes Th1 / Th2 modificada y Th17, IL-12, TNF α , TGF β o Arg-1 donde especifica que posee una inmunidad mediada por células y una inmunidad humoral, pudiendo observar que existe una gran producción de citoquinas proinflamatorias en la Vesícula biliar e hígado, donde la activación de elementos celulares del sistema innato es el primer paso en la respuesta inmunitaria, manteniendo los niveles de TNF α , TGF β estables, (Flynn y cols 2007), determinó que en *Fasciola gigantica* posee los mismos genes e inmunidad que en los bovinos.(ver tabla 1).

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ , Th1 / Th2 modificada y Th17, (IL-12, TNF α , TGF β o Arg-1),Th2-type, CL5, son genes candidatos para la producción de las vacunas de ADN, ya que su influencia está dada por la secreción de citoquinas pro inflamatorias y citoquinas que son liberadas por células del sistema inmunitario innato y por los niveles de secreción estables de los interferones, por lo tanto se considera que para estos 3 tipos de parásitos sería muy factible la creación de vacunas de ADN. (Ver tabla 2)

Finalmente a través de la investigación realizada, se puede mencionar que para *Fascioloides magna*, *Paramphistomum spp*, *Fasciolopsis buskii*, *Schistosoma spp*, *Cotylophoron*, *Orthocoelinae streptocoelium*, *leiperocotyle greillati*, *Eurytrema pancreaticum*, *Calicophoron daubneyi*, *Paramphistomum liorchis*, *Bitalorchis*, *Palamphistomum dutri*, *Palamphistomum lobatum* todavía no se ha reportado estudios sobre los genes relacionados con la inmunidad, por tal motivo queda como evidencia que los paracitos mencionados aun necesitan ser investigados y estudiados para posteriormente tener la información necesaria para la creación de vacunas de ADN.

Tabla 3 Genes identificados en parásitos Trematodos en ovinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Ovino	<i>Dicrocoelium spp</i>	<u>NC_025280.1</u>	Chile	Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ	Conductos biliares y vesícula biliar	interleuquina (citoquina)	Naser Morgan Azghadi., 2013
	<i>Fasciola hepatica</i>	<u>NC_002546.1</u>	Australia China	Th1 / Th2 modificada y Th17, (IL-12, TNF α , TGF β o Arg-1)	Vesícula biliar e hígado	Citoquinas pro-inflamatorias	Pérez et al., 2002

<i>Fasciola gigantica</i>	<u>NC_024025.1</u>	China Europa	/ Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Flynn y cols 2007
<i>Fascioloides magna</i>	<u>NC_029481.1</u>	Bulgaria				
<i>Paramphistomum spp</i>	<u>NC_023095.1</u>	Italia				
<i>Fasciolopsis buskii</i>	<u>NC_030528.1</u>	Europa				
<i>Schistosoma spp</i>	<u>NC_031501.1</u>	Alemania				

18.3 Parásitos *Trematodos* en caprino

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los caprinos son 14 siendo los más frecuentes *Dicrocoelium chinensis*, *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Fascioloides magna*, *Paramphistomum spp*, *Schistosoma capri*, de los cuales 3 han sido estudiados e investigados sus genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th2 (respuesta inmunitaria tipo 2 o de tipo humoral), CL1(Catepsina-L1 recombinante), CL5(Catepsina-L5 recombinante), Th2-type, TGF- β (Factor de crecimiento transformante beta),Th2, IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13(interleuquina). (Martínez M y cols., 1997)(83)determinaron que tras las diferente fases desarrollo de *Fasciola hepática* se generan antígenos que se detectan en los nódulos linfáticos hepáticos, la cual produce altos niveles de citoquinas IL-4, IL-5 e IL-10, así como también el incremento de las catepsina CL1 y CL5 asociadas a respuestas tipo Th2 que está asociada la respuesta humoral tipo 2, quien se encarga de activar a los linfocitos By T encargados de producir IgA e IgE dando como resultado a una respuesta inmunitaria efectiva. (Hany M., 2017)(79), determino que en *Fasciola gigantica* los genes TGF- β , Th2, activan a las catepcinas CL1 y CL2 y se responsabilizan de la inmunidad tipo 2 humoral presentando anticuerpos relacionados con IgG por tal motivo las citosinas producidas se acumulan en el Parénquima hepático y la vesícula biliar desarrollándose así una inmunidad contra la parasitosis. (Mitta G., 2004) (84), determina que en *Schistosoma capri* se generan antígenos que se detectan en Vasos sanguíneos, la cual produce que IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13 estimulen a las células efectoras como eosinófilos, basófilos y mastocitos se activen provocando que los linfocitos B produzcan IgA, IgE e IgG, dando como resultado la activación de una repuesta inmune humoral.

De acuerdo al análisis realizado se considera que los genes Th2, CL1, CL5, Th2-type, TGF- β , Th2, IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13, son genes candidatos para la producción de vacunas ya que si influencia está dada por una serie de Catepsinas, Citocinas, Eosinófilos, basófilos y

mastocitos que son liberadas por las células del sistema inmunitario, por lo tanto sería muy factible y necesario enfocarse en todos estos genes para la realización de vacunas.(ver tabla 3)

Finalmente través de la investigación que se realizó se puede mencionar que para *Fascioloides magna*, *Paramphistomum spp* y *Dicrocoelium chinensis*, *Cotylophoron panamense*, *Cotylophoron macrosphinetris*, *Calicophoron clavula*, *Paramphistomum liorchis*, *Paramphistomum gracile*, *Paramphistomum epiclitum*, *Paramphistomum gotoi*, *Eurytrema pancreaticum* no se ha logrado identificar estudios exactos de los genes relacionados a la respuesta inmunitaria, por lo cual queda como constancia que dichos parásitos necesitan ser estudiados con más profundidad para posteriormente obtener mayor información la cual ayudara a la creación de vacunas de ADN.

Tabla 4 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en caprinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Caprino	<i>Dicrocoelium chinensis</i>	NC_025279.1	China				
	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th2, CL1, CL5	Nódulos linfáticos hepáticos	Catepsina	Martínez M y cols., 1997
	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type, TGF-β	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	<i>Fascioloides magna</i>		Uruguay				
	<i>Paramphistomum spp</i>	NC_023095.1	Bulgaria				
	<i>Schistosoma capri</i>	NW_023366610.1	Puerto Rico	Th2, IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13	Vasos sanguíneos	Eosinófilos, basófilos y mastocitos	Mitta G., 2004

18.4 Parásitos *Trematodos* en porcino

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los porcinos son 14 siendo los más frecuentes *Fasciolopsis buskii*, *Metorchis orientalis*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, de los cuales 2 han sido investigados sus respectivos genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: TH1 (inmunidad mediada por células), Th1,Th2 (inmunidad tipo 2 humoral), L1, L2, Th2-type CL5(Catepsina-L5 recombinante), (H Quiroz-Romero- D Correa., 2014) (85), determinaron que en *Fasciola*

hepática los genes TH1 (Th1/Th2), L1 y L2 la cual indica que post a la infección de este parasito se puede observar que existe un incremento significativo de estos genes, por lo que se produce una respuesta inmunitaria en vesícula biliar e hígado toda esta inmunidad esta mediada por Mimotopo catepsina, macromolécula que provoca una respuesta de anticuerpos, desarrollando anticuerpos IgG circulantes contra los fagos filamentosos desarrollando una respuesta inmune humoral, (Hany M., 2017)(79), determinó que el gen Th2-type CL5 al igual que en bovinos posee el mismo gene, tejido e inmunidad. (Ver tabla 1).

De acuerdo al análisis realizado se considera que el gen TH1 (Th1/Th2), L1, L2, es el gen candidato para la creación de vacunas de ADN, ya que esta mediado por el incremento de Mimotopo catepsina macromolécula encargada de general anticueepos por lo que se considera factible enfocarse en este gen para la creación de vacunas de ADN.

Finalmente a través de la investigación realizada, se puede determinar que para *Fasciolopsis buskii*, *Metorchis orientalis*, *Dicrocoelium dendriticum*, *Brachylaemus erinacei*, *Echinochasmus suis*, *Gastrodiscoides homonis*, *Gastrodiscus aegyptiacus*, *Melagonimus yokogawai*, *Opistorchis tenuicollis*, *Paragonimus westermanii*, *Clonorchis sinensis*, *Eurytrema pancreaticum* todavía aún no se ha realizado estudios sobre los genes relacionados con la inmunidad por lo que queda como constancia que dichos paracitos necesitan ser estudiados e identificados con exactitud para tener mayor información y posteriormente contribuir datos que ayuden a la creación de las vacunas.

Tabla 5 Genes identificados en parásitos Trematodos en porcinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	<i>Fasciolopsis buskii</i>	NC_030528.1	Europa				
	<i>Metorchis orientalis</i>	NC_028008.1	China Korea	/			
Porcino	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	NC_025280.1	España				
	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia China	TH1 (Th1/Th2), L1, L2	Vesícula biliar e hígado	Mimotopo catepsina	H Quiroz-Romero- D Correa., 2014

<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China Europa	Th2-type / CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany 2017	M.,
-------------------------------	-------------	-----------------	----------------------	--	-----------	--------------	-----

18.5 Parásitos *Trematodos* en equino

Dentro de los principales paracitos *Trematodos* que afectan a los equinos son 8 siendo los más frecuentes *Dicrocoelium spp*, *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, los cuales los 3 de ellos, han sido investigados, sus respectivos genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th2 (inmunidad tipo 2 humoral) ,Th 1 (inmunidad medida por células), Th 17 (linfocitos T herper17), IL4 (interleuquina-4), IFN- γ (interferón gamma), Th2, TGF- β (Factor de crecimiento transformante beta)e IL-10 (interleuquia-10), Th2-type, CL5 (Catepsina-L5 recombinante), (Naser Morgan Azghadi., 2013)(81), determina que con referente a *Dicrocoelium spp*, el gen Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ al igual que en ovinos posee el mismo gene, tejido e inmunidad. (Ver tabla2), (M. Adela Valero y M. Dolores Bargaes., 2014), determinaron que en *Fasciola hepática* existe un incremento en la excreción de interleuquina IL-10 en la Pared intestinal y la cavidad peritoneal en cambio las citoquinas son las encargadas de disminuir y regular la respuesta inflamatoria producida por las células dendríticas siendo un potente inhibidor de la presentación antigénica, mientras que su capacidad de producir TGF- β disminuyó significativamente, siendo capaz de provocar una inmunosupresión durante procesos parasitarios en el animal,(Hany M., 2017)(79) determinó que el gen Th2-type CL5 al igual que en bovinos posee el mismo gene, tejido e inmunidad. (Ver tabla 1)

De acuerdo al análisis realizado en la investigación se considera que el gen candidato para la realización de vacunas de ADN podría ser Th2, TGF- β e IL-10, ya que su influencia esta mediada por Citoquinas que son las encargadas de regular y disminuir las respuestas inflamatorias producidas por otras células, por lo tanto estos genes ayudarían de manera satisfactoria para la creación de vacunas de ADN.

Finalmente a través de la investigación realizada, se puede determinar que para *Gastrodiscus secundus*, *Pseudodiscus*, *Pseudodiscus collinsi*, *Gastrodiscus aegyptiacus*, *Paramphistomum* todavía aún no se ha realizado estudios sobre los genes relacionados con la inmunidad por lo que queda como constancia que dichos paracitos necesitan ser

estudiados e identificados con exactitud para tener mayor información y posteriormente contribuir datos que ayuden a la creación de las vacunas.

Tabla 6 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en equinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	<i>Dicrocoelium spp.</i>	NC_025280.1	Chile	Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ	Conductos biliares y vesícula biliar	interleuquina (citoquina)	Naser Morgan Azghadi., 2013
Equino	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th2, (TGF- β e IL-10	Pared intestinal y la cavidad peritoneal	Citoquinas	M. Adela Valero y M. Dolores Bargues., 2014
	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017

18.6 Parásitos *Trematodos* en canino

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los caninos encontramos 19 siendo los más frecuentes *Echistosoma canis*, *Paragonimus westermani*, *Opisthorchis*, *Schistosoma spp*, *Fasciola hepática*, *Dicrocoelium spp*, *Haplorchis taichui*, de los cuales se encontró información de 2 parásitos donde se ha realizado una investigación de sus genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th2 (inmunidad tipo 2 humoral), IL4, IL10, IL13 (interleuquina), T CD4 +, CD8 CD247, Th0 (linfocitos colaboradores de generar una respuesta inmunitaria), Th2, IFN- γ (Interferón Gamma), (Matteo Fumagalli, Uberto Pozzoli., 2010)(86), determinaron que en *Schistosoma spp* hay presencia de los genes Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247) de los cuales existe una excreción incrementada de los genes IL4, IL10, IL13, en donde menciona que estas citoquinas son de fundamental importancia frente a estos parásitos, en los vasos sanguíneos mientras que las respuestas adaptativas de las células T CD4+. (IL13) son los encargados de la regulación de la función de los monocitos y de las células B (T CD4) son los encargados de ayudar a coordinar la respuesta inmunitaria al estimular a otros inmunocitos, como los macrófagos, los linfocitos B y los linfocitos T CD8 para combatir la infección. (T CD8) quienes son los encargados de reconocer y destruir las células infectadas por microorganismos. (Flynn y cols 2007), determino que en *Fasciola hepática* existe una presencia de los genes Th0 y

Th2, IFN- γ donde la excreción del interferón gamma se mantiene en niveles adecuados en el tejido del hígado, encargado también de crear la activación de los macrófagos quienes se encargan de eliminar cuerpos extraños, donde los mastocitos son los encargados de la defensa contra infestaciones parasitarias, Además que lo Eosinófilos son atraídos donde se encuentran los parásitos por medio de acción de moléculas quimiotácticas que producen la liberación de Eosinófilos a la circulación generando una respuesta inmune tipo 2 humoral ante infecciones.

De acuerdo al análisis en la investigación se considera que el gen Th0 y Th2, IFN- γ , son genes candidatos para la creación de vacunas ya que su respuesta inmunitaria esta mediada por la presencia de mastocitos, eosinófilos, encargados de proteger las infestaciones en el animal así como también los eosinofilos que se encargan de generar una respuesta inmunitaria de tipo 2.

Finalmente a través de la investigación realizada se puede mencionar que para *Echistosoma canis*, *Paragonimus westermani*, *Opisthorchis*, *Dicrocoelium spp*, *Haplorchis taichui*, *Opistorchis felineus*, *Opistorchis tenuicollis*, *Opistorchis tenuicollis*, *Metorchis bilis*, *Pseudamphistomum truncatum*, *Platynosomum fastosum*, *Metagonimus yokogawai*, *Nanophyetus salmincola*, *Apophallus donicus*, *Eryptocotyle lingua*, *Eupayphium melis*, *Echinochasmus perfoliatus* aún no existe información suficiente para la creación de vacunas, por lo cual queda como constancia que dichos parásitos necesitan ser más investigados para poder obtener la información necesaria para la creación de las vacunas de ADN.

Tabla 7 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en caninos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	<i>Echistosoma canis</i>						
	<i>Paragonimus westermani</i>	NC_002354.2	India				
	<i>Opisthorchis</i>	NC_011127.2	Estados Unidos				
Canino	<i>Schistosoma spp</i>	NC_031501.1	Puerto rico	Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	Interleuquinas, citosinas proinflamatorias	Matteo Fumagalli ,Uberto Pozzoli., 2010

<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia China	Th0 y Th2, IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos,	Flynn y cols 2007
<i>Dicrocoelium spp</i>	NC_025280.1	Chile				
<i>Haplorchis taichui</i>	NC_022433.1	Filipinas				

18.7 Parásitos Trematodos en felino

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los felinos son 20 siendo los más frecuentes *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felineuss*, *Metagonimus yokogawai*, *Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium spp*, de los cuales 2 de estos parásitos han sido investigados, sus genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th1 (inmunidad mediada por células), IL-12 (interleuquina-12), Th0 (linfocitos colaboradores de generar una respuesta inmunitaria) Th2 (inmunidad tipo 2 humoral), IFN- γ (interferón gamma), (Ji-Sook Leea, In Sik Kim., 2006)(87), determinaron que en el *Clonorchis sinensis* existe la presencia de los genes Th1, IL-12 de los cuales a nivel de conductos biliares y la vesícula biliar/hígado hay una presencia incrementada de los genes IL-12 encargada de estimular la producción de IgG e IgE para poder desarrollar una respuesta inmune mientras que las Catepsina B que son cisteína proteasas lisosómicas que funcionan como recambio proteico de las células, siendo están entre los principales candidatos antigénicos para la protección contra el parasito, (Brown y cols., 1994) determinó que el gen Th0 y Th2, IFN- γ en *Fasciola hepática* en canino y felino posee el mismo gene, tejido e inmunidad. (Ver tabla 6)

De acuerdo al análisis en la investigación se considera que el gen Th1, IL-12, son genes candidatos para la creación de vacunas ya que su respuesta inmunitaria esta mediada por Catepsina B / interleucina, citoquinas siendo entre los principales candidatos antigénicos para la protección contra el parásito.

Finalmente a través de la investigación realizada se puede mencionar que *para Opisthorchis felineuss*, *Metagonimus yokogawai*, *Dicrocoelium spp*, *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis tenuicollis*, *Opisthorchis tenuicollis*, *Metorchis bilis*, *Pseudamphistomum truncatum*, *Platynosomum fastosum*, *Metagonimus yokogawai*, *Nanophyetus salmincola*, *Apophallus donicus*, *Eryptocotyle lingua*, *Eupayphium melis*, *Echinochasmus perfoliatus*, *Platynosomum concinnum*, *Heterophyidae*, *Alaria spp* aún no existe información suficiente para la creación de vacunas, por lo cual queda como constancia que dichos parásitos

necesitan ser más investigados para poder obtener la información necesaria para la creación de las vacunas de ADN.

Tabla 8 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en felinos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Felino	<i>Clonorchis sinensis</i>	NC_012147.2	China	Th1, IL-12	Conductos biliares y la vesícula biliar/higado	Catepsina B / interleucina, citoquinas	Ji-Sook Leea, In Sik Kim., 2006
	<i>Opisthorchis felineuss</i>	NC_011127.2	Estados Unidos				
	<i>Metagonimus yokogawai</i>	NC_023249.1	Korea/China				
	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2, IFN-γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos,	Brown y cols., 1994
	<i>Dicrocoelium spp</i>	NC_025280.1	Chile				

18.8 Parásitos *Trematodos* en cobayo

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los cobayos son 3 siendo los más frecuentes *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Dicrocoelium dendriticum*, donde 2 han sido investigados sus genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th2 (respuesta inmunitaria tipo 2), IL4, IL10, IL13 (interleuquinas), Th2, IL-5, (Brown y cols., 1994), determinó en *Fasciola hepática* los siguientes genes Th2, IL4, IL10, IL13 las cuales estimulan la activación y proliferación de mastocitos, eosinófilos y a la vez linfocitos B que producen IgA, IgE e IgG, dando como resultado una repuesta inmune tipo 2 humoral a nivel de hígado, (Hany M., 2017)(79), determino en *Fasciola gigantica* los siguientes genes Th2, IL-5 encontrando un aumento en la expresión de citoquinas IL-5 IL-4 a nivel de Parénquima hepático y la vesícula biliar siendo quienes estimulan la activación y proliferación de eosinófilos, mastocitos y a la vez linfocitos B que producen IgA, generando la activación de la inmunidad tipo 2 humoral.

De acuerdo al análisis realizado en esta investigación se considera que el gen Th2, IL4, IL10, IL13 y Th2, IL-5 son genes candidatos para la creación de vacunas de ADN, ya que su influencia está dado por mastocitos, eosinófilos citosinas interleucina IL4 citosinas que

son liberadas por células del sistema inmunitario, por lo tanto si sería adecuado enfocarse en estos genes para la creación de vacunas.

Finalmente a través de esta investigación que se realizó se puede mencionar que para *Dicrocoelium dendriticum*, no se evidencia información necesaria de la identificación de genes y su respuesta inmunitaria por lo tanto queda como constancia que este parásito requiere de más información necesaria para que posteriormente se pueda elaborar la vacuna.

Tabla 9 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en cobayos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia China	Th2, IL4, IL10, IL13	Hígado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
Cobayo	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China	Th2, IL-5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas interleucina IL4	Hany M., 2017
	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	NC_025280.1	Chile				

18.9 Parásitos *Trematodos* en lagomorfos

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los lagomorfos son 3, de los cuales se evidencio que 2 de estos parásitos se han investigado, los respectivos genes relacionados con la inmunidad, estos genes son: Th2, IFN- γ , Th2, IL4,IL5,IL9, (Pérez *et al.*, 2002)(82), determino que los genes encontrados Th2, IFN- γ en *Fasciola hepática* el IFN- γ se encuentran en niveles bajos por tal razón se produce una respuesta inflamatoria en hígado caracterizada por citosinas pro inflamatorias, (Hany M., 2017)(79) determino que en *Fasciola gigantica* los genes Th2, IL4,IL5,IL9 presentes estimulan la activación y proliferación de eosinófilos, basófilos, mastocitos y a la vez linfocitos B que producen IgA, IgE, dando como resultado una repuesta inmune tipo 2 humoral.

De acuerdo a la investigación realizada se determina que en la investigación realizada se considera que el gen Th2, IL4, IL5, IL9 son genes candidatos para la creación de vacunas

de ADN ya que está influenciado por la estimulación, activación y proliferación de eosinófilos, basófilos, mastocitos generando como resultado una respuesta inmune tipo 2 humoral.

Finalmente a través de esta investigación que se realizó se puede decir que para *Dicrocoelium dendriticum* no existe información detallada para poder realizar vacunas de ADN por lo tanto queda como constancia que el presente parasito necesita ser más investigado para que cuando se tenga toda la información necesaria se pueda crear una vacuna.

Tabla 10 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en lagomorfos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	<i>Fasciola hepatica</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th2, IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos, Citosinas proinflamatorias	Pérez <i>et al.</i> , 2002
Lagomorfo	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China	Th2, IL4,IL5,IL9	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	NC_025280.1	Chile				

18.10 Parásitos *Trematodos* en Camélidos Sudamericanos

Dentro de los principales parásitos *Trematodos* que afectan a los Camélidos Sudamericanos encontramos 3 tipos siendo los más importantes *Fasciola hepática*, *Fasciola gigantica*, *Fascioloides magna*, de los cuales 2 de los parásitos se ha realizado una investigación de sus genes relacionados con la inmunidad estos genes son: Th0 (linfocitos colaboradores) y Th2 (respuesta inmunitaria de tipo 2 humoral), IFN- γ (Interferón gamma) Th2-type, CL5 (Catepsina-L5 recombinante), (Brown y cols., 1994) determino que en *Fasciola hepática* con el gen Th0 y Th2 IFN- γ en canino, felino y camélidos sudamericanos poseen el mismo gene, tejido e inmunidad. (Ver tabla 6- 7). (Hany M., 2017)(79), determino que en *Fasciola gigantica* el gen Th2-type, CL5 en equino, porcino, canino bovino y camélidos sudamericanos poseen el mismo gene, tejido e inmunidad.

Finalmente a través de esta investigación que se realizó se puede decir que para *Fascioloides magna* no existe información detallada para poder realizar vacunas de ADN por lo tanto queda como constancia que el presente parasito necesita ser más investigado para que cuando se tenga toda la información necesaria se pueda crear una vacuna.

Tabla 11 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en Camélidos sudamericanos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Camelidos sudamericanos	<i>Fasciola hepática</i>	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2 IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos,	Brown y cols., 1994
	<i>Fasciola gigantica</i>	NC_024025.1	China	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas, eosinofilos a la circulación	Hany M., 2017
	<i>Fascioloides magna</i>	NC_029481.1	Uruguay				

18.11 Parásitos *Trematodos* en aves

Dentro de los principales parásitos Trematodos que afectan a las gallinas son 20 siendo 1 el más frecuente, *Schistosoma revolutum* de este parásito se ha investigado los respectivos genes relacionados con la inmunidad: IL4, IL10, IL13 interleuquina / T CD4 + y CD8 (CD247), en el caso del pato se ha reportado el mismo parásito que en las gallinas. (Matteo Fumagalli, Uberto Pozzoli., 2010)(86),, determinaron que las células (IL4) son las encargadas de la regulación del sistema inmunitario en múltiple niveles mientras que la IL10 sus niveles aumentan donde se presentan anticuerpos relacionados con IgA, IgG e IgE, en cambio la IL13 se encarga de regular la función de los monocitos y de las células B en donde T CD4 se encarga de ayudar a coordinar la respuesta inmunitaria o estimular a otros inmunocitos, como los macrófagos, los linfocitos B y los linfocitos T en el organismo, luego las CD8 son las encargadas de combatir con la infección, finalmente las CD47 son las encargadas de reconocer y destruir las células infectadas por microorganismos, como bacterias o virus evitando así que ingresen a los vasos sanguíneos del animal.

Finalmente a través de esta investigación que se realizó se puede decir que para *Ribeiroia ondatrae*, *Helisoma australorbis*, *Schistosoma trivolvis*, *Schistosoma cloropodis*, *Echinoparyphium*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Echinoparyphium paraulum*, *Hypderaeum conoideum*, *Planorbis*, *Apatemon gracilis*, *Strigea strigi*, *Strigea falconis*, *Strigea abilgaard*, *Apatemon gracilis*, *Plagiorchis megalorchis*, *Postharmostomum*

commutatus, *Opistorchis*, *Psiltrema simillimum*, *Ornithotrema momoti* no existe información detallada para poder realizar vacunas de ADN por lo tanto queda como constancia que el presente parasito necesita ser más investigado para que cuando se tenga toda la información necesaria se pueda crear una vacuna.

Tabla 12 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en gallinas

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Gallina	<i>Schistosoma revolutum</i>	NC_031501.1	Cuenca Ecuador	Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	Interleuquina IL10, citoquinas	Matteo Fumagalli ,Uberto Pozzoli., 2010

Tabla 13 Genes identificados en parásitos *Trematodos* en patos

Especie	Parásito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Pato	<i>Echinostoma revolutum</i>	NC_031501.1	Oriente Medio	Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	Interleuquina, citoquinas	Matteo Fumagalli ,Uberto Pozzoli., 2010

19 IMPACTO

19.1 Impacto técnico

A través de la revisión bibliográfica se obtuvo una base de datos que ayudaran a biotecnólogos con la elaboración de una vacuna de ADN, con la utilización de la bioinformática y equipos tecnológicos de alta calidad logrando así obtener una vacuna que genere una respuesta inmunitaria ante las enfermedades parasitarias provocadas por los *Trematodos* en las diferentes especies animales, mejorando así su calidad de vida y brindando productos de primera calidad a la sociedad.

20 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

20.1 CONCLUSIONES

- Dentro de los resultados obtenidos después de haber realizado un análisis y de haber estudiado detalladamente cada uno de los genes de los *Trematodos* se logró llegar a la conclusión que existen diferentes genes candidatos para la elaboración de una vacuna de ADN estos genes son : IFN- γ , CL5 bovinos, Th 17, IL4, IFN- γ ovino, Th2, CL5 caprino, Th2 porcino, Th 17, IL4, IFN- γ equino Th2, IL4, canino, Th2, IFN- γ felino, Th2 cobayos, Th2, IFN- γ lagomorfos, Th2 IFN- γ camélidos sudamericanos Th2, IL4, IL10, IL13, T CD4 aves (gallinas / pato) encargados de causar una inmunidad, donde el animal logre desarrollar una defensa inmune propia frente a una infección, logrando así eliminar al parasito antes que el mismo, provoque una inoculación en el organismo, evitando así tener pérdidas económicas en todas las explotaciones especialmente en animales de producción.
- En el análisis de las secuencias genéticas recopiladas desde la base de datos informativos, obtenidos de la página NCBI de todos los *Trematodos* se pudo identificar que en lo referente a inmunidad existen varias células como CDS, CD4, CD8 y proteínas como citosinas, citoquinas, las mismas que se producen en diferentes partes del organismo animal, permitiendo que cada una de las especies mejore su sistema inmunológico.
- Luego de haber obtenido toda la información necesaria se elaboró una base de datos que contienen toda la información de los genes relacionados con la inmunidad que presenta cada uno de los *Trematodos* de las diferentes especies animales, donde se pudo identificar que ciertos parásitos anteriormente mencionados contienen toda la información sobre la secuencia genómica, ubicación, gen, tejido, inmunidad y referencia, información que servirá de mucha ayuda a biotecnólogos para la elaboración de vacunas de ADN.

20.2 RECOMENDACIONES

- Debido a la escasa información que existe de algunos parásitos *Trematodos* se debería aportar con el desarrollo de la investigación sobre los genes relacionados con la inmunidad para así incentivar a la elaboración de vacunas de ADN para controlar o reducir el parasitismo en las diferentes especies de animales.
- Buscar dentro de estos genes cuales son los exones y las regiones que codifican dentro de estos genes para saber con exactitud cuáles son los mecanismos que podrían servir para lograr elaborar una vacuna de ADN.

21 BIBLIOGRAFIA

1. García Más I, Araújo Muñoz B, Amaya Aguirre I, Polo Roldán I, García Moreno A, Refoyo Román P. Manual de laboratorio de Parasitología 6. Coccidios sanguíneos. Reduca (Biología) Ser Parasitol [Internet]. 2008;1(1):49–62. Available from: <http://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/viewFile/779/795>
2. Cordero Calderón KF. Prevalencia de Fasciola hepatica en Bovinos beneficiados en el Centro de Faenamiento FRILISAC entre los años 2012-2015 [Internet]. Universidad Ricardo Palma. UNIVERSIDAD RICARDO PALMA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS VETERINARIAS “Prevalencia; 2016. Available from: <http://repositorio.urp.edu.pe/handle/urp/902>
3. Fernando Lolas Stepke ERY y CVH. EL PROYECTO DEL GENOMA EN LA LITERATURA BIOMÉDICA LATINOAMERICANA DE CUATRO PAÍSES. 2004; Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2004000200005
4. Camposano Tapia PE. “ Prevalencia e parásitos gastrointestinales en aves criollas (Gallus domesticus)”. 2018;129. Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15667/1/UPS-CT007691.pdf>
5. María José Álvarez Pasquín, Susana Martín Martín CVM. Vacuna a vacuna 2a edición: Manual de información sobre vacunas en e-book [Internet]. Segunda ed. Abrego JB, editor. Zaragoza España; 2017. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=pJOHDwAAQBAJ&pg=PT57&dq=vacuna&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwj95vS5yNLrAhVrplkKHb7SDx4Q6AEwBHoECAyQAg#v=onepage&q=vacuna&f=false>
6. Dr. Jaime Borrell Valls. Vacunas Veterinarias: Preparación, Control, Distribución y Administración. Enero [Internet]. 2010; Available from: https://www.veterinariadigital.com/articulos/vacunas-veterinarias-preparacion-control-distribucion-y-administracion/#Definicion_de_vacuna

7. Santos J. Conceptos de vacunas: inmunogenicidad, eficacia, efectividad. 2013;1–41. Available from: [https://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/01 Dic 12_00 Dr. Santos_Conceptos de vacunas.pdf](https://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/01_Dic_12_00_Dr_Santos_Conceptos_de_vacunas.pdf)
8. Por C, Dominio EL, Virus EDEL, Dengue DEL. “ ESTUDIO DE LA INMUNOGENICIDAD DE UN CONJUGADO CONSTITUIDO POR EL DOMINIO E-DIII DEL VIRUS DEL DENGUE 2 Y EL BACTERIÓFAGO M13 EN RATONES BALB/c .” 2018;
9. Criado MT, Sánchez S, Ferreirós CM. Vacunología clásica y nuevas tecnologías en el diseño de vacunas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2008;26(9):564–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1157/13128274>
10. Clonación y expresión heteróloga de un potencial candidato vacunal contra neumonía en alpacas usando el enfoque pan-genómico de la vacun. 2017; Available from: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5823/Juscamayta_lj.pdf?sequence=2&isAllowed=y
11. Verónica Schwarzbach. VACUNOLOGÍA INVERSA: UNA NUEVA ESTRATEGIA EN VACUNAS [Internet]. 2008. 2007. Available from: <https://www.stambouliau.com.ar/novedades/vacunologia-inversa-una-nueva-estrategia-vacunas/>
12. Heinson AI, Woelk CH, Newell ML. The promise of reverse vaccinology. *Int Health*. 2015;7(2):85–9.
13. Juan P. Duque. Biotecnología [Internet]. España; 2010. 96–97 p. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=77eWLHLyMNcC&pg=PA96&dq=SECUENCIACIÓN+DEL+ADN&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjJmKva8eTrAhWIo1kKHbhKAYEQ6AEwAnoECAkQAg#v=onepage&q=SECUENCIACIÓN DEL ADN&f=false>
14. Eberhard Passarge. GENETICA TEXTO Y ATLAS [Internet]. Tercera ed. New York; 2007. Available from:

https://books.google.com.ec/books?id=bgQ_xyJYkigC&pg=PA62&dq=Método++q uímico++SECUENCIACIÓN+DEL+ADN&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwibyjk_u TrAhUr01kKHc5RDXsQ6AEwAHoECAyQAg#v=onepage&q=Método químico SECUENCIACIÓN DEL ADN&f=false

15. Fabricio González Andrade. Ensayos médicos sobre genética: la genética molecular en la medicina ecuatoriana [Internet]. Primera ed. Ecuador; 2006. Available from: https://books.google.com.ec/books?id=5TsMx_-fySYC&pg=PA155&dq=Método++químico++SECUENCIACIÓN+DEL+ADN&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwibyjk_uTrAhUr01kKHc5RDXsQ6AEwAnoECAkQAg#v=onepage&q=Método químico SECUENCIACIÓN DEL ADN&f=false
16. Ciro A. de Quadros. Vacunas: prevencion de enfermedades proteccion de la salud [Internet]. 272 p. Available from: <https://books.google.com.ec/books?id=hhsS2-KbxpEC&pg=PA272&dq=Las+vacunas+de+ADN+son+anillos+simples+de+ADN&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjNmOnPo8vrAhUJ2FkKHdt2BiEQ6AEwAHoECAAQAg#v=onepage&q=Las vacunas de ADN son anillos simples de ADN&f=false>
17. José Manuel Sánchez-Vizcaíno. Vacunas de nueva generación. 2010; Available from: <http://apps.sanidadanimal.info/cursos/inmunologia/ca092.htm>
18. David D, Carlos J, Valle B, Carlos J, David D, Valle MB. - Las vacunas de ADN: una promisorio medicina para el paciente veterinario (DNA vaccines: a promising medicine for the veterinary patient). Redvet. 2006;VII(2):(15 pg, 238 KB) utilizada (8).
19. Grande MM. Vacunas Veterinarias. 2016;6–34. Available from: http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/4432/TFGUEx_2016_Grande_Preciado.pdf?sequence=1
20. Javier Mota-Sánchez D. Vacunas de ADN: inducción de la respuesta inmunitaria. 2009; Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342009000900012

21. Salleras L. Tecnologías de producción de vacunas (III) . Vacunas génicas. 2002;145–9.
22. Augusto C, Escobar M, Vanessa L, Murillo R, Soto JF. Tecnologías bioinformáticas para el análisis de secuencias de ADN Bioinformatics Technologies for the Analysis of DNA sequences . 2011;(49):116–21.
23. Kovanen J, Haltia M, Cantell K. Failure of interferon to modify Creutzfeldt-Jakob disease. Br Med J. 1980;280(6218):902.
24. Tang N, Pública S, Msp II, Miranda C, Casos EDELOS, En DEC, et al. ACIDOS NECLEICOS. 2018; Available from:
https://www.edu.xunta.gal/centros/iespuntacandieira/system/files/06_Ácidos_nucleicos.pdf
25. Bermúdez GP. Biología molecular: ADN recombinante y sus aplicaciones [Internet]. Colombia; 2019. Available from:
<https://books.google.com.ec/books?id=O7u9DwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=ADN+recombinante+pdf&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjYk9zYq8vrAhWJzlkKHaQ2DpMQ6AEwAHoECAMQAq#v=onepage&q=ADN recombinante pdf&f=false>
26. Tang N, Pública S, Msp II, Miranda C, Casos EDELOS, En DEC, et al. El DNA MITOCONDRIAL. 2018;
27. Helena Curtis AS. Curtis. Biología [Internet]. Septima. Marcelo T. de Alvear, editor. Madrid-España; 2008. Available from:
https://books.google.com.ec/books?id=mGadUVpdTLsC&pg=PA207&dq=gen+significado+en+veterinaria&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjx-oH_9sXrAhVRp1kKHT-xDygQ6AEwAXoECAMQAq#v=onepage&q=gen significado en veterinaria&f=false
28. María Estela Raffino. GEN. 2019; Available from: <https://concepto.de/genes/>
29. Función de Gen Transcripción. 2020;
30. Inmunología veterinaria [Internet]. Vol. Desima edi, Ian R. Tizard. Barcelona

España; 2010. Available from:

<https://books.google.com.ec/books?id=EO9wDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=genes+inmunologicos+veterinaria&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjv0bTV7cbrAhXr01kKHVqhBL8Q6AEwAXoECAMQA#v=onepage&q&f=false>

31. Kelley J. Inmunología, biología molecular y la enfermedad. *Rev Méd Clín Condes*. 2007;277–86.
32. Martínez Sánchez ME. Dinámica de la diferenciación de Células Th : modelación con redes Booleanas. 2011;90.
33. Corvo I. Biología Celular y Molecular [Internet]. UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA; 2013. Available from: <https://docplayer.es/14229208-Especificidad-de-sustrato-de-la-catepsina-13-secretada-por-el-estadio-juvenil-de-fasciola-hepatica.html>
34. TRANSPORTE DE GLUCOSA . PARTICIPACIÓN DE LAS VÍAS DE SEÑALIZACIÓN JAK2 , PI3K / Akt Y MAPK. 2007;
35. Carrasco L. Citoquinas: de fieles aliadas a temibles enemigas. *An la Real Acad Ciencias Vet Andalucía Orient* [Internet]. 2011;24(1):75–90. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4247205>
36. Carracedo RMM. INTERLEUCINA 5La IL-5 [Internet]. 2012. Available from: <https://es.slideshare.net/roosemontero/il-5-y-6>
37. Profesor D med. SNGDJ y, Profesor DJABL, Año DLRVR 2º, Profesor DAMW. Interleucina 9 y células T cooperadoras tipo 9 [Internet]. 2017. Available from: <http://slaai.blogspot.com/2017/02/interleucina-9-y-celulas-t-cooperadoras.html>
38. Pazmiño FA, Navarrete Jiménez ML. Mecanismos inmunológicos implicados en la patología del asma alérgica. *Rev la Fac Med*. 2014;62(2):265–77.
39. Kannan V. interleukins IL13 [Internet]. 2015. Available from: <https://es.slideshare.net/VipinKannan1/interleukins>

40. A G-HL. Cells Th17 md114h.pdf. 2011. p. Volumen 2 (4).
41. Mata-Espinosa DA, Hernández-Pando R. Interferón gamma: Aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos. Rev Investig Clin [Internet]. 2008;60(5):421–31. Available from:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revinvcli/nn-2008/nn085i.pdf>
42. Valencia RF. Factor de necrosis tumoral: Actividad biológica en neumopatías intersticiales. Rev del Inst Nac Enfermedades Respir. 2002;15(1):48–53.
43. Gálvez-Gastélum FJ, Sandoval-Rodríguez AS, Armendáriz-Borunda J. El factor de crecimiento transformante beta como blanco terapéutico. Salud Publica Mex. 2004;46(4):341–50.
44. Moran EM, Charles IDD, Dublín U De. Células Th17. :17. Available from:
[file:///C:/Users/ESTUDI~1/AppData/Local/Temp/Sup1.Th17 Cells \(Células Th17\).pdf](file:///C:/Users/ESTUDI~1/AppData/Local/Temp/Sup1.Th17Cells(CélulasTh17).pdf)
45. c. Bonifaz GL. Linfocitos T cooperadores adaptativos. Unidad Investig Médica Inmunoquímica [Internet]. 2008;VI. Available from:
<https://www.asieslamedicina.org.mx/linfocitos-t-cooperadores-adaptativos-y-linfocitos-innatos-en-enfermedades-inflamatorias-cronicas/?pdf=3440>
46. Romero-Palomo F, Cordón PJS, Riscalde MA, Pedrera M, Molina V, Ruiz-Villamor E, et al. Funciones Y Clasificación De Las Células Dendríticas. An la Real Acad Ciencias Vet Andalucía Orient [Internet]. 2011;24(1):167–92. Available from:
<file:///C:/Users/ESTUDI~1/AppData/Local/Temp/Dialnet-FuncionesYClasificacionDeLasCelulasDendriticas-4247382.pdf>
47. Bendaña A. Conceptos y principios generales de inmunización. Normas PAI [Internet]. 2011;15–32. Available from:
<http://www.bvs.hn/Honduras/PAI/ManualNormasyProcedimientos/MNPPAIH1-7.pdf>
48. Esperanza A. Respuesta Inmunitaria [Internet]. 2007. Available from:

<https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/inmunitaria.pdf>

49. Ian R. Tizard. Introducción a la inmunología veterinaria [Internet]. 8th ed. Madrid; Capitulo 5. Available from:
https://books.google.com.ec/books?id=YwgSSo4ml8gC&printsec=frontcover&dq=inmunoglobulinas+veterinaria+pdf&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiUzK-DsY7rAhWEdt8KHR_vDUIQ6AEwAXoECAAQAQAg#v=onepage&q=inmunoglobulina&f=false
50. Inmunología de las parasitosis.
51. Erns, Santiagot. M.V M,P, V,M.Sc. Pedro Saelzer , Dr. M.V.MED , vet FW. M. . MVS, editor. Archivos de Medicina Veterinaria [Internet]. 2nd ed. Vol. 21. VALDIVIA- CHILE; 1989. 83 p. Available from:
https://books.google.com.ec/books?id=cDS_eQTCupUC&pg=PA83&dq=inmunidad+humoral+veterinaria&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjA6b6z44zrAhUqZN8KHcZHCxAQ6AEwBHoECAEQAg#v=onepage&q=inmunidad humoral veterinaria&f=false
52. Inmunología VeterinariaR. Tizard. Inmunología VeterinariaR. Tizard [Internet]. 10th ed. España; 2010. 2 p. Available from:
<https://books.google.com.ec/books?id=EO9wDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=inmunidad+veterinaria+pdf&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwihhqvlsYzrAhUyUt8KHanICEwQ6AEwAXoECAQQAQAg#v=onepage&q&f=false>
53. Surco Luna Victor Jezbít. Inmunidad Humoral. Rev Actual Clínica. 2011;13:565–8.
54. Pena J, Aguado E. Inmunoglobulinas. 2015 [Internet]. 1998;(January). Available from: <file:///C:/Users/ESTUDI~1/AppData/Local/Temp/Inmunoglobulinas-1.pdf>
55. Parham P. Inmunología [Internet]. Segunda. España; 2005. Available from:
https://books.google.com.ec/books?id=IX3Sqib_1ooC&pg=PA23&dq=inmunoglobulinas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwinu6Oqt8vrAhXBpFkKHYUDDBUQ6AEwAXoECAIQAg#v=onepage&q=inmunoglobulinas&f=false

56. Narvaez J. Inmunoglobulinas Porcinas [Internet]. Vol. 4, La Granja. 2006. p. 64.
Available from:
<file:///C:/Users/ESTUDI~1/AppData/Local/Temp/Inmunoglobulinas.pdf>
57. F. García-Cozar EA y JP. Inmunoglobulinas [Internet]. Argentina; 1988. Available from: https://www.researchgate.net/publication/233794658_Inmunoglobulinas
58. E Golub. Base celular de la respuesta inmunológica [Internet]. Barcelona; 220 p.
Available from:
<https://books.google.com.ec/books?id=z3p2fwojkCcC&pg=PA199&dq=inmunoglobulinas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwid0LSbucvrAhVKjlkKHfFsCD0Q6AEwBHoECAIQAg#v=onepage&q=IgA&f=false>
59. Microbiología Médica + Student Consult: -- [Internet]. Sexta. Mexico; Available from:
<https://books.google.com.ec/books?id=2ZM4XS9WatcC&pg=PT379&dq=inmunoglobulinas+IgA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi-zrD1ucvrAhUKlFkKHVESB38Q6AEwBnoECACQAg#v=onepage&q=inmunoglobulinas+IgA&f=false>
60. Aguilera NE. Evaluación de fracciones antigénicas, enzimáticas de fasciola hepatica en el diagnóstico inmunológico de fasciolosis en ovinos, equinos y porcinos. 2007;1–66. Available from: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130785>
61. Polyakov NV, Romih V V., Polyakov VE. Fasciolosis. Pediatr - Zhurnal im GN Speranskogo [Internet]. 2016;95(2):167–71. Available from:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2005/pt052d.pdf>
62. Páucar Sinche SE. Prevalencia de fasciolosis y paramphistomosis en el ganado lechero de tres distritos de la provincia de Oxapampa, Pasco. Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2008;62. Available from:
<http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/661>
63. Fuertes M. Paranfistomosis bovina por Calicophoron daubneyi en el noroeste de Castilla y León: estudio epidemiológico, lesional y de la respuesta inmunitaria local.

- Dep Sanid Anim Fac Vet Univ León [Internet]. 2015; Available from:
http://buleria.unileon.es/xmlui/bitstream/handle/10612/5160/tesis_27005d.PDF?sequence=1
64. Laura I. Mecanismos de inmunorregulación. 2004;
 65. Robles D. Nuevas técnicas para el estudio de cepas ovinas de *Fasciola hepatica* con diferente origen y grado de resistencia a fármacos antihelmínticos. 2015;
 66. Teresa Uribarren Berrueta. Paragonimiasis [Internet]. Mexico; Available from:
http://microypara.facmed.unam.mx/?page_id=1938
 67. Redalyc. Caracterización molecular de la inmunidad humoral de la paragonimiosis experimental. 2012;
 68. Мещерякова ЛМ, Понтак ЛС. Estudio de los mecanismos de inmunomodulación por *Fasciola hepatica* G.
 69. Fasciola NY, En H, Fertilidad LA. EFECTO DE LA CO-INFECCIÓN DE ECHINOCOCCUS GRA- QUISTE HIDATÍDICO Y EN LA RESPUESTA INMUNE LOCAL [Internet]. 2019. Available from:
<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/175563/Tesis Christian Hidalgo Franco.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 70. Garfias CRB. Helmintos parásitos de importancia veterinaria: Regulación de la respuesta inmunitaria del portador y su uso potencial para el tratamiento de enfermedades inflamatorias. *Vet Mex* [Internet]. 2009;40(3):283–91. Available from: <http://scielo.unam.mx/pdf/vetmex/v40n3/v40n3a7.pdf>
 71. Jesús Gregorio Rodríguez Diego. Vacunas parasitarias. 2019; Available from:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2019000300009
 72. Teresa Martínez-Ortiz Ollero. SM14/GLA-SE: PRIMERA VACUNA FRENTE A SCHISTOSOMA MANSONI [Internet]. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE; 2018. Available from: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/TERESA MARTINEZ-ORTIZ OLLERO.pdf>

73. Pérez PM. Evaluación Del Daño Hepático Y Respuesta Inmunitaria Local En Cabras Vacunadas Con Catepsina L1 E Infectadas Con Fasciola Hepatica. Tesis Dr. 2010;189.
74. xxxxx. Trematodos [Internet]. Universidad de Sevilla; Available from: <https://www.bioscripts.net/zoowiki/elproyecto.html>
75. Díaz RAM. Generalidades de trematodos [Internet]. 2014. Available from: <https://es.slideshare.net/RicardoAmilcarMoraznDaz/generalidades-de-trematodos>
76. TREMATODOS o DUELAS: gusanos PLANOS parásitos internos del GANADO bovino, ovino, porcino y aviar, CABALLOS, PERROS y GATOS [Internet]. 2018. p. xxxxx. Available from: https://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=145
77. NIH. Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/home/about/mission/>
78. Meeusen ENT, Piedrafita D. Exploiting natural immunity to helminth parasites for the development of veterinary vaccines. *Int J Parasitol.* 2003;33(11):1285–90.
79. Shi W, Wei ZY, Elsheikha HM, Zhang FK, Sheng ZA, Lu KJ, et al. Dynamic expression of cytokine and transcription factor genes during experimental *Fasciola gigantica* infection in buffaloes. *Parasites and Vectors.* 2017;10(1):1–12.
80. Kojima S, Kamijo T, Usawattanakul W. Genetic control of immune responses to *Schistosoma japonicum*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1984;15(4):518–22.
81. Navi Z, Rad MJ, Fata A, Moghaddas E, Mahmoudi M, Rastin M, et al. Helminthic therapy of experimental autoimmune encephalomyelitis by *Dicrocoelium ova*. 2020;1–23.
82. Rao, U., Birmaher, B., Kaufman, J., Ryan, N. D., & Brent, D. A. (2007). K-Sads-Pl. *Children (K-SADS)*, 39(1996) 49–58., Gómez-piña, J., & Fleury, A. (2017). Contribución original Resumen. *Revista Mexicana de Neurociencia*, 18(3) 34–48.

Retrieved from www.revexneuroci.com / ISSN 1665-5044, (n.d.). DC 70 37p., Iv, D. S. M., Ochoa, W. C., Mosquera, Y. S., Gómez, P., & Ossio, Ó. H. (n.d.). V26N3a02 26(3)., G. GÓMEZ-JARABO GARCÍA1, S. OLAVARRIETA BERNARDINO1, M. A. DE CABO ASTORGA1, B. BESTEIRO LÓPEZ1, M. CHERVINSKY1, & J. LÓPEZ SÁNCHEZ. (2008). Indicadores de mejora cognitiva en el “Proyecto Urbanita”, modelo específico de integración sociolaboral de person 75–89. Retrieved from http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-05592008000100007, García-Barrera, A. (2017). Las necesidades educativas especiales: un lastre conceptual para la inclusión educativa en España. *Ensaio: Avaliação e Políticas Públicas Em Educação*, 25(96) 721–742. <https://doi.org/10.1590/s0104-40362017002500809>, et al. SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN LA ESPECIE BOVINA. 2002;(February 1921):4–5. Available from: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2002/fvm668s/doc/fvm668s.pdf>

83. Gesti DE, Titulaci TDE, Obtenci PLA, Grado DEL, En DEM, Internacionales N, et al. Universidad autónoma agraria “antonio narro.” *Bol Soc Entomológica Aragon*. 2009;18(24):1–5.
84. Mitta G, Galinier R, Tisseyre P, Allienne JF, Girerd-Chambaz Y, Guillou F, et al. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Dev Comp Immunol*. 2005;29(5):393–407.
85. Quiroz HR. *Parasitologia* [Internet]. Mexico; 1990. Available from: <https://es.slideshare.net/pedroillas/libro-de-parasitologa-hctor-quiroz-romero>
86. Fumagalli M, Pozzoli U, Cagliani R, Comi GP, Bresolin N, Clerici M, et al. The landscape of human genes involved in the immune response to parasitic worms. *BMC Evol Biol*. 2010;10(1).
87. Lee JS, Kim IS, Sohn WM, Lee J, Yong TS. Vaccination with DNA encoding cysteine proteinase confers protective immune response to rats infected with *Clonorchis sinensis*. *Vaccine*. 2006;24(13):2358–66.

22 ANEXOS

Anexo No.1. Aval del Traductor



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 tema del proyecto de grado al Idioma Inglés presentado por la señorita egresada de la **CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES: MOLINA ALVAREZ PAMELA FRANCISCA**, cuyo título versa **“ANÁLISIS DE GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INMUNITARIA DE LOS PARÁSITOS (TREMATODOS) PARA EL DISEÑO DE VACUNAS DE ADN”**, 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 estime conveniente.

Latacunga, agosto del 2020

Atentamente,


MSc. Alison Mena Barthelotty
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 0501801252



CENTRO
DE IDIOMAS

Anexo No.2. Hoja de vida Docente

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

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

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

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

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

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

Dra. Nancy Cueva Salazar Mg.

Firma del Tutor o estudiante

Anexo No.3. Hoja de vida Estudiante

Los parámetros de la hoja de vida no pueden ser modificados

1.- DATOS PERSONALES:

Nombre: MOLINA ALVAREZ PAMELA FRANCISCA
Apellido Paterno Apellido Materno Nombres

Lugar y fecha de Nacimiento: Latacunga 27 de octubre de 1995

Edad: 24 años **Género:** Femenino

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

Dirección Domiciliaria: Cotopaxi Pujili La Victoria
Provincia Cantón Parroquia
Dirección

Teléfono(s): 032682179 0995262857
Convencionales Celular o Móvil

Correo electrónico: pamela.molina0364@utc.edu.ec **Cédula de Identidad o Pasaporte:** 0504430364

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

Personas con discapacidad: N° de carné del CONADIS:

2.- INSTRUCCIÓN FORMAL:

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

Nivel de Instrucción	Nombre de la Institución Educativa	Título Obtenido	Número de Registro SENESCYT	Lugar (País y ciudad)
Bachillerato	Provincia de Cotopaxi	Ciencias Sociales	ME-REF-270941	Ecuador

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

Firma del estudiante

Anexo No. 4. Parásitos *Trematodos* en todas las Especies

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2, IFN- γ , CL5, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13	Higado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
	fasciola gigantica	NC_024025.1	China	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Paramphistomum cervi	NC_023095.1	Alemania				
	Dicrocoelium spp	NC_025280.1	Qinghai, China				
	Schistosoma monsoni	NC_031501.1	Puerto rico	H-2a / H-2k, IL4, IL5	Vasos sanguíneos	Citoquinas	Kaji R., 1982
	Fascioloides magna	NC_029481.1	Uruguay				
	Paramphistomum liorchis		australia				
	Paramphistomum gracile		africa				
	Paramphistomum epiclitum		asia				
	Paramphistomum gotoi		Japon				
Bovino	Paramphistomum ichikawai		Australia				
	explanatum bathiocotyle		India				
	explanatum anisocotyle		Filipinas				
	Cotylophoron jacksoni		Africa				
	Cotylophoron panamense		Africa				
	Cotylophoron macrosphinetris		Centro America				
	Calicophoron clavula		America del norte				
	Calicophoron sukani		Africa				
	Calicophoron daubneyi		Europa				
	Orthocoelinae		China				
	Orthocoelinae streptocoelium		Sudamerica				

	Orthocoelinae narayanai		India				
	leiperocotyle gretillati		Africa				
	Bitalorchis Palamphistomu m dutri		Asia Japon				
	Palamphistomu m lobatum		Australia				
	Eurytrema pancreaticum		Filipinas				
Especie	Parasito	Secuencia genomica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	Dicrocoelium spp	NC_025280.1	Chile	Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ	Conductos biliares y vesícula biliar	IL4 interleuquina (citoquina)	Naser Morgan Azghadi., 2013
	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th1 / Th2 modificada y Th17, (IL- 12, TNF α , TGF β o Arg-1)	Vesícula biliar e hígado	Citoquinas pro-inflamatorias	J. E. Rodríguez., 2008
	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Fascioloides magna	NC_029481.1	Bulgaria				
	Paramphistomu m spp	NC_023095.1	Italia				
	Fasciolopsis buskii	NC_030528.1	Europa				
Ovino	Schistosoma spp	NC_031501.1	Alemania				
	Cotylophoron		Estados Unidos				
	Orthocoelinae streptocoelium		Africa				
	leiperocotyle gretillati		China				
	Eurytrema pancreaticum		Asia				
	Calicophoron daubneyi		China				
	Paramphistomu m liorchis		America del sur				
	Bitalorchis Palamphistomu m dutri		Estados Unidos Filipinas				
	Palamphistomu m lobatum		Australia				
Especie	Parasito	Secuencia genomica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1

	Dicrocoelium chinensis	NC_025279.1	China				
	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th2, CL1, CL5	Nódulos linfáticos hepáticos	Catepsina	Martínez M y cols., 1997
	Fasciola gigantica.	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type, TGF-β	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Fascioloides magna		Uruguay				
	Paramphistomum spp	NC_023095.1	Bulgaria				
Caprino	Schistosoma capri	NW_023366610.1	Puerto Rico	Th2, IL-4, IL-10, IL-5 e IL-13	Vasos sanguíneos	Eosinófilos, basófilos y mastocitos proteasas	Mitta G., 2004
	Cotylophoron panamense		Africa				
	Cotylophoron macrosphinetris		Centro America				
	Calicophoron clavula		America del norte				
	Paramphistomum liorchis		australia				
	Paramphistomum gracile		africa				
	Paramphistomum epiclitum		asia				
	Paramphistomum gotoi		Japon				
	Eurytrema pancreaticum		China				
	Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad
	Fasciolopsis buskii	NC_030528.1	Europa				
	Metorchis orientalis	NC_028008.1	China / Korea				
	Dicrocoelium dendriticum	NC_025280.1	España				
Porcino	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	TH1 (Th1/Th2), L1, L2	Vesícula biliar e hígado	Mimotopo catepsina	H Quiroz-Romero- D Correa., 2014
	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Brachylaemus erinacei		Siberia				
	Echinochasmus suis		Africa				

Gastrodiscoides homonis	Europa
Gastrodiscus aegyptiacus	Estados Unidos
Melagonimus yokogawai	Australia
Opistorchis tenuicollis	Iberia
Paragonimus westermanii	Japon
Clonorchis sinensis	India
Eurytremia pancreaticum	India

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	Dicrocoelium spp.	NC_025280.1	Chile	Th 2 / Th 1, Th 17, IL4, IFN- γ	Conductos biliares y vesícula biliar	IL4 interleuquina (citoquina)	Naser Morgan Azghadi., 2013
	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th2, (TGF- β e IL-10)	Pared intestinal y la cavidad peritoneal	Citoquinas	M. Adela Valero y M. Dolores Barges., 2014
Equino	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China / Europa	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Gastrodiscus secundus		Africa				
	Pseudodiscus collinsi		Senegal				
	Gastrodiscus aegyptiacus		Egipto				
	Paramphistomum		India				
			Japon				

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	Echistosoma canis						
	Paragonimus westermani	NC_002354.2	India				
	Opisthorchis	NC_011127.2	Estados Unidos				
Canino	Schistosoma spp	NC_031501.1	Puerto rico	Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	interleuquina , citosinas proinflamatorias	Matteo Fumagalli ,Uberto Pozzoli., 2010
	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2, IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
	Dicrocoelium spp	NC_025280.1	Chile				

Haplorchis taichui	<u>NC_022433.1</u>	Filipinas
Opistorchis felineus		Bilbao
Opistorchis tenuicollis		Peninsula Iberica
Opistorchis tenuicollis		Africa Occidental
Metorchis bilis		Japn
Pseudamphistomum truncatum		China
Platynosomum fastosum		Africa
Metagonimus yokogawai		Europa
Nanophyetus salmincola		Siberia
Apophallus donicus		Rusia
Eryptocotyle lingua		Ucrania
Eupayphium melis		America Central
Echinochasmus perfoliatus		Japon

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Felino	Clonorchis sinensis	<u>NC_012147.2</u>	China	Th1, IL-12	Conductos biliares y la vesícula biliar/higado	Catepsina B / interleucina, citoquinas	Ji-Sook Leea, In Sik Kim., 2006
	Opisthorchis felineus	<u>NC_011127.2</u>	Estados Unidos				
	Metagonimus yokogawai	<u>NC_023249.1</u>	Korea/China				
	Fasciola hepatica	<u>NC_002546.1</u>	Australia / China	Th0 y Th2, IFN-γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
	Dicrocoelium spp	<u>NC_025280.1</u>	Chile				
	Opistorchis felineus		Bilbao				
	Opistorchis tenuicollis		Peninsula Iberica				
	Opistorchis tenuicollis		Africa Occidental				
	Metorchis bilis		Japn				
	Pseudamphistomum truncatum		China				
Platynosomum		Africa					

fastosum	
Metagonimus yokogawai	Europa
Nanophyetus salmincola	Siberia
Apophallus donicus	Rusia
Eryptocotyle lingua	Ucrania
Eupayphium melis	America Central
Echinochasmus perfoliatus	Japon
Platynosomum concinnum	China
Heterophyidae	Estados Unidos
Alaria spp	Australia

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Cobayo	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th2, IL4, IL10, IL13	Higado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China	Th2, IL-5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas, interleucina IL4	Hany M., 2017
	Dicrocoelium dendriticum	NC_025280.1	Chile				
Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Lagmorfo	Fasciola hepatica	NC_002546.1	Australia / China	Th2, IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófilos	Brown y cols., 1994
	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China	Th2, IL4,IL5,IL9	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas	Hany M., 2017
	Dicrocoelium dendriticum	NC_025280.1	Chile				
Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Camelidos sudamericanos	Fasciola hepática	NC_002546.1	Australia / China	Th0 y Th2 IFN- γ	Higado	Mastocitos, eosinófiloS	Brown y cols., 1994
	Fasciola gigantica	NC_024025.1	China	Th2-type, CL5	Parénquima hepático y la vesícula biliar	Citocinas, eosinofilos a la circulación	Hany M., 2017
	Fascioloides magna	NC_029481.1	Uruguay				
Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1

Gallina	Schistosoma revolutum	<u>NC_031501.1</u>	Cuenca Ecuador	Th2, IL4, IL10, IL13, T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	interleuquina IL10, citoquinas	Matteo Fumagalli, Uberto Pozzoli., 2010
	Ribeiroia ondatrae		Egipto				
	Helisoma australorbis		China				
	Schistosoma trivolvis		Asia				
	Schistosoma cloropodis		India				
	Echinoparyphium		Estados Unidos				
	Echinoparyphium recurvatum		Bietman				
	Echinoparyphium paraulum		Uruguay				
	Hypderaeum conoideum		Barcelona				
	Planorbis		Japon				
	Apatemon gracilis		America del centro				
	Strigea strigi		España				
	Strigea falconis		China				
	Strigea abilgaard		India				
	Apatemon gracilis		Australia				
	Plagiorchis megalorchis		Europa				
	Postharmostomum commutatus		Mexico				
	Opistorchis		Centro America				
	Psiltrema simillimum		Australia				
	Ornithotrema momoti		Asia				

Especie	Parasito	Secuencia genómica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
Pato	Echinostoma revolutum	<u>NC_031501.1</u>	Oriente Medio	Th2, IL4, IL10, IL13, / T CD4 + y CD8 (CD247)	Vasos sanguíneos	Interleuquina, citoquinas	Matteo Fumagalli, Uberto Pozzoli., 2010
	Echinoparyphium recurvatum		Bietman				
	Hypderaeum conoideum		Barcelona				

Planorbis	Japon
Apatemon gracilis	America del centro
Strigea strigi	España
Psiltrema simillimum	Australia
Ornithotrema momoti	Asia
Typhlocoelum cucumerinum	Filipinas
Zygocotyle lunata	China
Psilostomun ondatrae	Asia
Prosthogonimus spp	Estados Unidos
Prosthogonimus pellucidus	Europa

Especie	Parasito	Secuencia genomica	Ubicación	Gene	Tejido	Inmunidad	Referencia N°1
	Prosthogonimus spp						
Gancho / Pavo	Prosthogonimus ovatus						
	Prosthogonimus pellucidus						
	Pygidiopsis summa						
	Prosthogonimus pellucidus						

