



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

INMUNOLOGIA VETERINARIA APLICADA. SISTEMA INMUNE DEL BOVINO.

TRABAJO DE SEMINARIO QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA PRESENTA: ERIKA GEORGINA CASTILLO GUERRA

ASESOR: M.C. JUAN CARLOS DEL RIO GARCIA.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO. 2002.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN. Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlán, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario

Immunología Veterinaria Aplicada.

Sistema Inmune del Bovino.

que presenta la pasante: Erika Georgina Castillo Guerra.

con número de cuenta: 9652648-2 para obtener el título de

Médica Veterinaria Zootecnista.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VISTO BUENO

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 5 de Diciembre de 2001

MODULO

PROFESOR

FIRMA

I

M.c. Juan Carlos del Rio Garcia.

II

M.C. Andrea Rodriguez Ropón.

IV

MVZ. Marisela Leal Hernández.

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle las gracias:

A MI DIOS.....

- El que comenzó en vosotros la buena obra la perfeccionara hasta el día de Jesucristo. (Fil 1:6)
- Encomienda a Jehová tu camino confía en el; y el hará. (Salmo 37:5)
- Al que cree todo le es posible (Mr 9:23)

A MIS PADRES....

Por su amor, por su confianza , su apoyo y dedicación, por su lucha constante, por enseñarme amar a los animales, no tengo muchas palabras con que agradecerles pero quiero que sepan que les amo y que siempre les estaré agradecida.

A MIS HERMANOS.....

Por su amor, su amistad, por estar conmigo en todo momento.

A MIS PASTORES.....

Por el amor y el cariño que siempre me dieron, por estar conmigo en todo momento, por su amistad por sus enseñanzas y sus oraciones los amo mucho.

A MIS MAESTRO.....

Por su dedicación, su tiempo, por transmitirme sus conocimiento y enseñarme a disfrutar y amar esta carrera.

A MIS ASESORES.....

Por su dedicación , por todo el apoyo que me ofrecieron, por su paciencia y su enseñanza.

A MIS AMIGOS.....

Por su ayuda en la computadora, por su amor y porque se que aunque no los veo siempre estamos juntos.

A LA FAMILIA ORTIZ VIVEROS.....

Por ser como mi familia, durante varios años, por sus cuidados y atenciones y por todo el amor que me ofrecieron. Nunca se me va a olvidar, los quiero.

A LA FAMILIA BELTRÁN GUTIERREZ.....

Por su amor por hacerme sentir amada, por su aliento, por su amistad y todo el apoyo que me han dado durante todo este tiempo por siempre recibirme con los brazos abiertos, por sus atenciones y sus oraciones mil gracias.

A JUAN BELTRÁN.....

Por su apoyo, por su paciencia , su cariño y dedicación y porque a pesar de todo seguimos juntos te amo.

INDICE

TÍTULO	PAGINA
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Inmunidad del neonato.....	7
Transferencia de la inmunidad mediada por células en la leche.....	10
Inmunidad en glándula mamaria.....	10
Desarrollo del sistema inmunitario.....	12
Órganos linfoides primarios.....	14
Maduración Intratímica de las células T.....	15
Órganos linfoides secundarios.....	19
Células del sistema inmune.....	26
Complejo principal de histocompatibilidad.....	39
El sistema BoLA.....	41
Moléculas del MHC y enfermedades.....	44
Inmunoglobulinas del bovino.....	46
Citocinas.....	51
Literatura citada.....	56

INDICE DE FIGURAS.

	PAGINA
Fig1. Desarrollo de sistema inmune.....	13
Fig 2. Cabeza de bovino que muestra la manera en que los vasos linfáticos desembocan en el ganglio parotídeo.....	21
Fig 3. Estructura de un ganglio linfático.....	22
Fig 4. Localización del bazo bovino.....	22
Fig 5. Estructura del bazo bovino.....	24
Fig 6. Origen de las células de la medula ósea.....	26
Fig.7. Estructura de un eosinófilo.....	28
Fig.8. Estructura de un basófilo.....	28
Fig.9. Funciones de las células naturales asesinas (NK).....	31
Fig.10 Estructura de la célula dendrítica.....	32
Fig.11. Linfocito T CD4 y linfocitos T CD8 y linfocitos B.....	35
Fig.12.Linfocitos T CD4.....	36
Fig.13. Representación esquemática de MHC clase I y II.....	40
Fig.14. Representación esquemática tridimensional del MHC clase I.....	40
Fig.15. Estructura del MHC bovino.....	42
Fig.16. IgG2 del bovino.....	46
Fig.17. Estructura de las inmunoglobulinas BCR típico.....	47

INDICE DE CUADROS.

	PAGINA
❏ Cuadro 1. Tipo de placentación y modo de transferencia de anticuerpos de la madre al hijo en diferentes especies.....	7
❏ Cuadro 2. Localización de leucocitos en el timo.....	15
❏ Cuadro 3. Distribución de linfocitos en Placas de Peyer.....	17
❏ Cuadro 4. Distribución histológica de subpoblaciones leucocitarias en linfonodo bovino.....	21
❏ Cuadro 5. Distribución leucocitaria en el bazo bovino.....	24
❏ Cuadro 6. Distribución leucocitaria en los órganos linfoides del bovino.....	25
❏ Cuadro 7. Diferentes nombres de las células dendríticas según su localización.....	32
❏ Cuadro 8. Receptores de superficie en el bovino.....	38
❏ Cuadro 9. BoLA y relación con enfermedades.....	45
❏ Cuadro 10. concentraciones mg/ml de Ig (subclases) en fluidos corporales.....	51
❏ Cuadro 11. citocinas reguladoras de la inmunidad natural del bovino.....	54
❏ Cuadro 12. Citocinas clonadas del bovino del bovino.....	55

ABREVIATURAS

ADCC	<i>Antibody- dependent cell-mediated cytotoxicity.</i> Citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos.
AICC	Citotoxicidad mediada por células independientes de anticuerpos.
ALVC	<i>Veiled cells.</i> Células veladas.
BCR	<i>B- cell (antigen) receptor</i> receptor de células B.
BHV-1	Herpes bovino tipo 1.
BoLA	<i>Bovine leucocyte antigen system.</i> Antígeno leucocitario bovino.
BVD	<i>Bovine virus diarrhea.</i> Diarrea viral bovina.
CD	<i>Cluster of differentiation</i> Grupo de diferenciación.
CoPP	Placa de Peyer colonicas.
CPP	Placa de Peyer continua.
DPP	Placas de Peyer Individuales.
Et.al.	Y otros.
Fc	<i>Crystallizable fragment</i> fragmento (o inmunoglobulina) cristalizabile.
FcR	<i>Fc Receptor.</i> Receptor de Fc.
GALT	<i>Gut-associated lymphoid tissue.</i> Tejido linfoide asociado al intestino.
IFN	Interferón.
Ig	Inmunoglobulina
IgA	Inmunoglobulina A
IgE	Inmunoglobulina E
IgG	Inmunoglobulina G
IgM	Inmunoglobulina M
IL	<i>Interleukin.</i> Interleucina.
J	<i>Joining.</i> Sitio de unión.
kDa	Kilodaltón.
Mab	Anticuerpos monoclonales.
MHC	<i>Major histocompatibility complex.</i> Complejo Mayor de Histocompatibilidad
MyD1	Familia de proteínas reguladoras
NK	<i>Natural killer.</i> asesina natural.
RT-PCR	Transcriptasa en reversa de reacción en cadena de polimerasa
slgA	Inmunoglobulina A de tipo secretor
SIRP	Familia reguladora de proteínas.

SRCR *Scavenger receptor cysteine rich family*. Familia de receptores de basura ricos en cisteína.

TCR *T-cell antigen receptor*. Receptor de células T

Th *Helper T cell*. Célula T cooperadora.

TNF *Tumor necrosis factor*. Factor de necrosis tumoral.

WC *Workshop cluster scavenger receptors* de basura.

LETRAS GRIEGAS

α alfa

β beta

δ delta

ϵ épsilon

γ gamma

κ kappa

λ lambda

SUMMARY

The objective of this work is to increase the knowledge of the Veterinary on the immune system of the bovine one. In the it mentioned characteristic anatomical and physiologic of the lymphoid organs primary and secondary that compose this system besides the morphological and functional characteristic of the components that participate in the immune responses as they are: the cellular immune responses and the responses of type humoral where the types and subtypes of present immunoglobulins are studied in the bovine one, also carried out a deep investigation about the major Histocompatibility complex mentioning the genes that make difference with other animals species the relationship that has with illnesses that affect to bovine one.

RESUMEN

El objetivo este trabajo es aumentar los conocimientos del Médico Veterinario Zootecnista sobre del sistema inmune del bovino. En el se mencionan características anatómicas y fisiológicas de los órganos linfoides primarios y secundarios que componen este sistema, además de las características morfológicas y funcionales de los componentes que participan en la respuesta inmune como son: la respuesta inmune celular y la respuesta inmune humoral donde se estudian los tipos y subtipos de inmunoglobulinas presentes en el bovino, también se realizó una investigación profunda acerca del complejo mayor de histocompatibilidad mencionando los genes que hacen la diferencia con otras especies animales y la relación que este tiene con enfermedades que afectan a los bovinos.

INTRODUCCIÓN

Se considera a la inmunidad como una reacción a las sustancias extrañas, incluyendo a los microorganismos así como a macromoléculas tales como proteínas y polisacáridos, sin que dicha reacción tenga repercusión fisiológica o patológica. La inmunología es el estudio de la inmunidad en un sentido más amplio y de los acontecimientos celulares y moleculares que tienen lugar una vez que el organismo entra en contacto con los microorganismos y otras macromoléculas extrañas. (1,16,17)

Durante los últimos 30 años, se ha producido una notable transformación en nuestra comprensión del sistema inmune del bovino y sus funciones. Gracias a los avances de las técnicas del cultivo celular, la metodología del ADN recombinante y la bioquímica de proteínas la inmunología ha experimentado un cambio pasando de ser una ciencia descriptiva a relacionar los distintos fenómenos inmunitarios de una manera coherente y a explicarnos en términos estructurales y bioquímicos bastante exactos. (1)

IMUNIDAD INNATA Y ESPECÍFICA.

Los animales sanos se encuentran protegidos contra los microorganismos por medio de diferentes mecanismos. Algunos de estos mecanismos de protección incluyen la **inmunidad innata** (también llamada **natural** o **nativa**). Las características de la inmunidad innata se limitan a la capacidad para discriminar un microorganismo de otro y a su naturaleza moderadamente estereotípica, siendo su función muy parecida frente a la mayoría de los agentes infecciosos. Los elementos esenciales de la inmunidad innata son: 1) barreras físicas y químicas, como epitelios y sustancias antimicrobianas producidas en la superficie epitelial; 2) proteínas sanguíneas, entre las que se incluyen miembros del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación; y 3) células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos) y otros leucocitos como las células asesinas naturales (NK en inglés, *natural killer*). La inmunidad innata representa la primera línea de defensa contra los microorganismos. (23)

A diferencia de la inmunidad innata, existen mecanismos de defensa mucho más evolucionados que son estimulados tras la exposición a agentes infecciosos y cuya intensidad y capacidad defensiva aumentan después de la posterior exposición a un determinado microorganismo. Puesto que esta forma de inmunidad se desarrolla como una respuesta a la infección, se le denomina **inmunidad adaptativa**. Las características de la inmunidad adaptativa son: especificidad exquisita para moléculas diferentes; especialización, que las capacita para responder de forma singular a diferentes microorganismos; y su capacidad para "recordar" y responder con más fuerza tras exposiciones repetidas al mismo microorganismo. Debido a esta capacidad para discriminar entre diferentes microorganismos, la inmunidad adaptativa se denomina también **inmunidad específica**. Los componentes de la inmunidad específica son los **linfocitos** y sus productos, entre ellos los **anticuerpos**. (17)

Las sustancias extrañas que inducen respuestas inmunes específicas o son blanco de tales respuestas se denominan **antígenos**. Convencionalmente la inmunología es el estudio de la inmunidad específica y la "respuesta inmune" hace relación a las respuestas que son específicas a distintos antígenos que pueden ser antígenos microbianos o sustancias no infecciosas. (23)

La inmunidad innata no proporciona sólo una primera defensa contra los microorganismos, sino que también desempeña diversas funciones importantes en la inducción de respuestas inmunes específicas. Por ejemplo, la inflamación que se asocia a muchas infecciones proporcionan una señal de alarma que dispara respuestas inmunes específicas. (1)

El sistema inmune específico ha conservado muchos de los mecanismos efectores de la inmunidad innata que sirven para eliminar invasores extraños, añadiéndole tres nuevas e importantes propiedades.

En primer lugar *la respuesta inmune específica estimula los mecanismos protectores de inmunidad innata, y de este modo los capacita mejor para eliminar a los antígenos extraños. De ahí que las respuestas inmunes específicas pueden combatir a los microorganismos que han evolucionado haciéndose resistentes a la inmunidad innata. (1)*

En segundo lugar, *el sistema inmune específico ha superpuesto sobre los mecanismos relativamente estereotipados de la inmunidad innata un alto grado de especialización.* Mientras que la inmunidad innata funciona de modo parecido contra la mayor parte de los microorganismos, la naturaleza de la respuesta inmune específica varía según el tipo de microorganismo, y está concebida para eliminar del modo más eficaz un microorganismo concreto. (1)

En tercer lugar, *el sistema inmune específico "recuerda" todos los encuentros con un microorganismo o antígeno, de tal suerte que los encuentros posteriores estimulan mecanismos de defensa cada vez más eficaces.* Esta propiedad se denomina **memoria inmunológica**, y constituye el fundamento de la vacunación protectora frente a enfermedades infecciosas. (1)

TIPOS DE RESPUESTA INMUNE ESPECÍFICA.

Las respuestas inmunes específicas se clasifican en dos tipos, según el componente del sistema inmune que participa en la respuesta. (1,17)

1. **En la inmunidad humoral** Las células de la inmunidad humoral son los linfocitos B, los cuales responden a la presencia de antígenos extraños y producen moléculas de origen proteico que son responsables de reconocer y eliminar a los antígenos; estas moléculas se llaman **anticuerpos**. (23)
2. **En la inmunidad mediada por células**, también llamada **inmunidad celular**, participan células llamadas **linfocitos**. (23)

La inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa contra los microorganismos extracelulares y sus toxinas ya que los anticuerpos se pueden unir a éstos y ayudar en su eliminación. Por el contrario, los microorganismos intracelulares, como el virus y algunas bacterias sobreviven y proliferan dentro de los fagocitos y otras células del huésped donde son inaccesibles a los anticuerpos circulantes. La defensa frente a este tipo de infecciones corre a cargo de la inmunidad mediada por células, que funcionan favoreciendo la muerte de las células infectadas.(1,16)

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LA RESPUESTA INMUNE.

Las respuestas inmunes humoral y mediada por células tienen una serie de características fundamentales: (1)

1. *Especificidad.* Las respuestas inmunes son específicas para los diferentes antígenos y de hecho, para los diferentes componentes estructurales de un complejo proteico, polisacárido, u otro antígeno. (1)
2. *Diversidad.* El número total de especificidades antigénicas de los linfocitos en un animal, llamado repertorio de linfocitos, es extremadamente amplio. Se estima que el sistema inmune del bovino puede discriminar al menos 10^9 determinantes antigénicos diferentes. Esta extraordinaria diversidad en el repertorio es el resultado de la variabilidad estructural de los sitios que unen antígenos en los receptores para antígenos presentes en los linfocitos. (1)
3. *Memoria.* La exposición del sistema inmune a un antígeno extraño mejora la capacidad para responder de nuevo frente a ese antígeno. Así las respuestas a la segunda exposición o siguientes exposiciones al mismo antígeno, llamadas **respuestas inmunes secundarias**. Son generalmente más rápidas, duraderas y a menudo cuantitativamente diferentes de las primeras respuestas, o respuestas primarias a ese antígeno. Esta propiedad de la inmunidad específica se llama **memoria inmunológica**. (1)
4. *Especialización.* El sistema inmune responde de diferentes maneras ante diferentes microorganismos. Esta clase de adaptaciones se ha desarrollado para aumentar al máximo la eficacia de los mecanismos de defensa antimicrobiana. (1)
5. *Autolimitación.* Todas las respuestas inmunes normales disminuyen con el tiempo después de la eliminación por el antígeno. Esto es debido a que las respuestas inmunitarias sirven para eliminar a los antígenos y suprimir así el estímulo esencial que produce la activación del linfocito. Los linfocitos estimulados por los antígenos también pueden desarrollar sus funciones durante breves períodos de tiempo después de la estimulación luego morir o diferenciarse en células de memoria funcionalmente inactivas. (1)

6. *Discriminación entre lo propio y lo no propio.* Una de las propiedades más importantes de todo sistema inmune de un animal sano es la capacidad para reconocer, responder y eliminar antígenos extraños (lo no propio). (1)

Estas características fundamentales de la inmunidad son necesarias si el sistema inmune está preparado para llevar a cabo su función normal de defensa del huésped. La especificidad y la memoria permiten al sistema inmune generar mejores respuestas frente a la estimulación persistente o recurrente con el mismo antígeno, y así, combatir infecciones prolongadas o que ocurren repetidamente. La diversidad es esencial si el sistema inmune sirve para defender a los animales frente a un gran número de patógenos potenciales del medio ambiente. La especialización permite al huésped "diseñar a la medida" respuestas para combatir de la mejor manera los diferentes tipos de microorganismos que infectan a los bovinos. La autolimitación permiten al sistema regresar a un estado de latencia después de haber eliminado cada antígeno, capacitándolo para responder adecuadamente frente a otros antígenos. (17)

INMUNIDAD DEL NEONATO

La inmunidad pasiva transmitida de la madre a la cría está afectada de manera principal por el tipo de placentación propia de la especie. Los bovinos son una especie doméstica que a través de la evolución, han desarrollado un tipo de placentación que por sus características histológicas y anatómicas no le permiten transferir anticuerpos a la cría durante la gestación. Así y después de formarse y permanecer en el ambiente estéril del útero los animales recién nacidos se enfrentan a un medio variado de antígenos. (26)

El bovino presenta una placentación de tipo epiteliocorial; situación que la hace impermeable para las inmunoglobulinas (anticuerpos) debido a su alto peso molecular. Por esta razón, el bovino neonato depende de la inmunidad pasiva transmitida por su madre a través del calostro para su protección contra enfermedades infecciosas. (10,24) (Cuadro 1.)

Tipos de placentas y modo de transferencia de anticuerpos de la madre al hijo en diferentes especies.

Especies	Placentación	PRENATAL		POSNATAL	
		transferencia	Ruta	Transferencia	Duración Ruta
terneros, cabras, ovejas, caballos y cerdos	epiteliocorial	0	ninguna	+++	36h Intestino
perro	endoteliocorial	+	trasplacentaria	++	10 días Intestino
ratón	hemocorial	+	transplacentaria	++	16 días Intestino
rata	hemocorial	+	transplacentaria	++	20 días Intestino
hombre	hemocorial	+++	transplacentaria	0	ninguno

Cuadro. 1(24)

El calostro es la secreción presente en la glándula mamaria durante las primeras 24 horas después del parto, abundante en inmunoglobulinas acumuladas en ella a lo largo de las últimas semanas de gestación, junto con proteínas transferidas del torrente sanguíneo por efecto de los estrógenos y la progesterona, con el objeto de proveer nutrimentos y anticuerpos al becerro recién nacido. (10,25,26)

El calostro tiene una mayor concentración de sólidos totales más que la leche (22% vs. 12%), debido sobre todo a su alto contenido de proteína

(14.0% vs. 3.1%) del cual casi la mitad (47%) consiste en gammaglobulinas; además de contener vitaminas liposolubles y minerales sobresaliendo el calcio, fósforo y sodio; carbonatos y grasa altamente digeribles para el becerro. El calostro bovino posee una densidad que con frecuencia oscila entre los 50 y 150 mg/ml de inmunoglobulinas, de éstas la más abundante es la IgG en sus dos subtipos: IgG1 e IgG2, en donde la primera es más abundante en el suero y en el calostro y ambas comprenden 85% del total. Posteriormente le sigue la IgM que constituye el 7%, y la IgA e IgE se encuentran en 5 y 3%, respectivamente. (10,25,26)

La absorción de inmunoglobulinas presentes en el calostro en becerros recién nacidas al inicio de la lactancia ocurre de manera no selectiva en el intestino delgado; en estos animales la actividad proteolítica en el tubo digestivo es baja y se reduce aún más por que el calostro posee inhibidores de la tripsina. Por este motivo, las proteínas del calostro no se degradan ni se utilizan como fuente de alimento, sino que llegan intactas al intestino delgado. Las inmunoglobulinas del calostro se unen a un receptor Fc especializado en las células epiteliales del intestino de los neonatos (FcRn). Este receptor es un heterodímero del MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) clase Ib que contiene una cadena alfa grande y una microglobulina β_2 . Una vez que se une al FcRn, las células epiteliales captan la forma activa de las inmunoglobulinas por medio de pinocitosis, y atraviesan estas células hacia los conductos quilíferos, y tal vez a los capilares intestinales. Al final, la inmunoglobulina absorbida llega a la circulación sistémica y los neonatos obtienen así una transfusión masiva de inmunoglobulinas maternas. De este modo es el mecanismo de la transferencia de inmunoglobulinas de origen materno, células maduras incapaces de absorber inmunoglobulinas reemplazan a las células epiteliales intestinales de tipo fetal. Por lo cual el calostro debe ser ingerido antes de que lleguen moléculas de mayor tamaño al epitelio intestinal, de lo contrario, estas moléculas obstruirán la absorción. (10,25,26,17, 31)

La Ig séricas en el becerro alcanzan los niveles máximos 24 a 36hr posparto y persisten así hasta los 4 días de vida, se ha observado que el tiempo posparto y la cantidad de calostro óptimos para obtener los niveles más altos de Ig se presentan

cuando se dan al menos 2 litros en las primeras 3 h de vida; aunque se sabe que para las concentraciones séricas de Ig a los 2 a 4 días de vida, son más importantes las primeras dos tomas de calostro dentro de las primeras 12 h postparto. A medida que el tiempo ha transcurrido aumenta o disminuye la cantidad de calostro consumido empiezan a existir diferentes grados de hipogammaglobulinemias. (26)

Estudios realizados por Piojan, et.al. en el año 1997 concluyen que la cantidad de Ig transferidas depende de diversos factores tales como: el tiempo transcurrido entre el parto y la ingestión del calostro (debilidad del neonato, un impulso débil de succión o problemas físicos, como tetillas defectuosas en la madre o anomalías mandibulares en el lactante), el contenido de Ig en el calostro, el número de parto de la vaca, el estrés ambiental (tipo de parto, hora de parto, lugar del parto, condiciones del clima, presencia o ausencia de la madre, grado de confinamiento, exposición a patógenos, etc. Cuando el becerro se alimenta con cantidades medidas de calostro en presencia de la madre absorben más anticuerpos que los que se alimentan con la misma cantidad, pero lejos de la madre. La calidad del calostro tiene relación con la concentración de Ig; es decir a mayor concentración de inmunoglobulinas será mayor la calidad del calostro. El volumen de calostro consumido tiene una relación directa con la transferencia de inmunidad pasiva ya que un consumo deficiente significará una dosis baja de Ig calostrales. Si los becerros no pueden mamar, y por ello son hipogammaglobulinémicos, empezarán a sintetizar su propia inmunoglobulina hacia la primera semana de edad. (10. 17,25,30)

Cuiroz, et.al. en 1998 llegaron a la misma conclusión tal como que desde el punto de vista inmunológico el calostro es vital para la supervivencia y la salud del becerro. Con base en el análisis de la calidad del calostro del primer ordeño es posible tener una aproximación del estado de salud de la madre, deficiencias nutricionales, infecciones, etc. (26)

Las secreciones de la glándula mamaria se transforman gradualmente de calostro a leche. La leche de los bovinos es rica en IgG1 e IgA. Durante las primeras semanas de vida, mientras la digestión proteínica es deficiente, estas

inmunoglobulinas pueden encontrarse en toda la extensión del intestino y en las heces de los animales jóvenes.

Conforme aumenta la capacidad digestiva del intestino, al final sólo las moléculas de IgA quedan intactas. Por tanto, la IgA es el factor más importante para protegerlos contra infecciones entéricas. (30)

TRANSFERENCIA DE LA INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS EN LA LECHE.

En el calostro la cuenta linfocitaria es de hasta 1×10^6 /ml, cerca de 50% son células T. Por lo general hay pocos linfocitos en la leche. Los linfocitos del calostro pueden sobrevivir hasta 36 h en el intestino de los becerros recién nacidos, y algunos penetran la pared intestinal para llegar a los quilíferos y los ganglios linfáticos mesentéricos. La inmunidad celular puede transmitirse al neonato de esta forma. (31)

Se han realizado comparaciones entre calostro con células y otro que no contiene, para valorar la capacidad protectora contra *E. coli* enteropática. Los becerros que recibieron el calostro con células, excretaron mucho menos bacterias que los que recibieron el calostro libre de células. La concentración de anticuerpos específicos de tipo IgA e IgM contra *E. Coli* en el suero de los neonatos fue mayor en los casos que recibieron células en el calostro. (10, 31)

GLANDULA MAMARIA.

El tejido mamario sintetiza localmente IgA, aunque muchas de las células que la producen derivan de percursoros originados en el tubo digestivo. Estas células son una fuente de anticuerpos contra microorganismos patógenos intestinales. Por lo contrario, la IgG1 se transfiere de manera selectiva por un mecanismo de transporte activo desde el suero. (30)

Si se inyecta un antígeno en la glándula mamaria lactante, tiende a ser eliminado por la leche. Si se le inyecta en el interior de una glándula que no se encuentra en periodo de lactación, entonces se genera una respuesta inmunitaria local en la cual predomina IgA e IgG1, desafortunadamente ya que la leche se extrae en forma

constante la concentración de anticuerpos se mantiene bastante baja, aunque durante cierto periodo la cantidad de inmunoglobulinas que segrega la ubre puede ser considerable. (30,31)

El calostro es rico en macrófagos y linfocitos. Estos macrófagos pueden procesar al antígeno y cuando se cultivan el sobrenadante puede intensificar la producción de IgA en linfocitos sanguíneos. Los linfocitos de la leche pueden sobrevivir durante un tiempo en el intestino y son capaces de transferir una inmunidad relevante al animal recién nacido. (31)

DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNITARIO

El desarrollo del sistema inmunitario en el becerro sigue un patrón constante. El timo es el primer órgano linfoide en formarse, seguido por los órganos linfoides secundarios. Las células que contienen inmunoglobulinas se desarrollan poco después de la aparición del bazo y los ganglios linfáticos, pero los anticuerpos casi nunca se encuentran hasta la parte final de la vida fetal para responder a los antígenos, se desarrollan muy rápidamente luego que aparecen los órganos linfoides, pero no todos los antígenos tienen la misma capacidad para estimular al tejido linfoide fetal. Se piensa que el sistema inmunitario se forma en una serie de etapas, cada una de las cuales permite que el feto responda a más antígenos. Sin embargo es probable que la posibilidad de reaccionar a la mayor parte de los antígenos extraños se obtenga en un lapso relativamente breve. La capacidad para establecer respuestas inmunitarias de tipo celular se desarrolla al mismo tiempo que la producción de anticuerpos. (31)

El sistema inmunitario del becerro se forma al principio de la vida fetal. Aunque el periodo de gestación de la vaca es de 280 días, el timo fetal ya puede reconocerse 40 días después de la concepción. La médula ósea y el bazo aparecen a los 55 días. Los ganglios linfáticos pueden observarse ya a los 60 días, pero las placas de Peyer no se aparecen hasta los 175 días. Los linfocitos de la sangre periférica se identifican en los fetos bovinos hacia el día 45, las células B de IgM+ el día 59 y las productoras de IgG el día 135. Las primeras respuestas inmunitarias detectables son aquéllas dirigidas a virus. Existen informes de que los becerros responden a los rotavirus a los 73 días, al parvovirus el día 93 y al virus 3 de parainfluenza a los 120 días. (31) Fig.1

Aunque el feto no está del todo indefenso, es menos capaz de combatir una infección que el adulto. Se ha demostrado que los tejidos de becerros de 95 días de gestación producen interferones alfa y beta en cantidades similares a las que se generan en los tejidos adultos. Sin embargo también se sabe que el feto produce

menos interferón gamma. En consecuencia, hay varias enfermedades que pueden ser leves o indetectables en la madre y son graves o letales en el feto, tales como rinotraqueítis infecciosa bovina (*Herpesvirus 1* bovino, BHV-1), diarrea viral bovina (*bovine virus diarrhoea*, BVD). A menudo, las infecciones fetales ocasionan hiperplasia linfoide y aumento de la concentración de inmunoglobulinas. Por esa razón, la presencia de concentraciones importantes de inmunoglobulinas en un becerro que no haya recibido leche materna, es indicativa de estímulo antigénico intrauterino. En general la respuesta a microorganismos está determinada por el estado de desarrollo inmunitario del feto. (7,31)

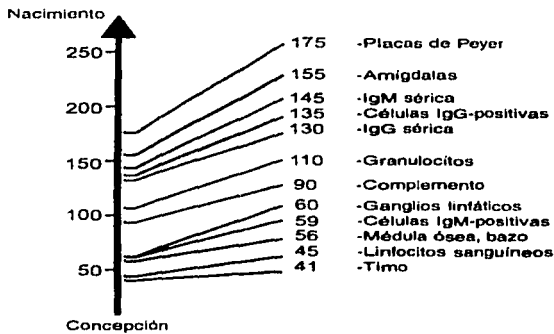


Fig. 1. Desarrollo progresivo del sistema inmune. (31)

ORGANOS LINFOIDES PRIMARIOS.

Se llama así a aquellos órganos cuya función consiste en regular la producción y diferenciación de linfocitos T y linfocitos B entre los ejemplos de órganos linfoides primarios en el bovino están; el timo, plaças de Peyer y algunos autores consideran a la piel como un órgano linfoide primario. (15)

EL TIMO

Es un órgano que se encuentra en el espacio mediastínico craneal en el momento de su máximo desarrollo se extiende sobre la superficie craneal del pericardio y llega hasta el origen del tronco pulmonar y el arco aórtico; su tamaño relativo es mayor en un animal recién nacido, en tanto que el absoluto es mayor en el momento de la pubertad.

Después de ésta se produce atrofia y su corteza se reemplaza por tejido adiposo, pero persiste aún en animales viejos. (15)

ESTRUCTURA DEL TIMO.

El timo está formado por lóbulos de células epiteliales, agrupadas en forma laxa, y cada uno de dichos lóbulos se encuentra cubierto de una cápsula de tejido conectivo. La parte externa de cada lóbulo es llamada corteza y la parte interna q es llamada médula. La mayoría de las células de este órgano son linfocitos T (97%) y células dendríticas (3%) apoyada por una red de células epiteliales.

Dentro de la medula hay cuerpos redondos, llamados corpúsculos de Hassal tímicos, estos corpúsculos contienen queratina, y es probable que representen un intento fallido de queratinización por parte de las células epiteliales, que a veces se observa en su centro la persistencia de un pequeño vaso sanguíneo, y en los bovinos contiene altas concentraciones de IgA. (15,31) (Cuadro 2 y 6)

Localización de los leucocitos en el timo bovino

Población celular	Porcentaje %	Localización de la población
CD2-CD4-CD8-	10-20	Pequeño número en corteza externa
CD2+CD4+CD8+	50-60	Gran número en corteza; ausentes en medula.
CD2+CD4-CD8+	5-15	Moderado Número en medula; ausente en corteza
CD2+CD4+CD8-	5-15	Moderado número en medula; ausente en corteza.
$\gamma\delta$ TCR+	5-15	Moderado número en medula; pequeño número esparcido en corteza.

Cuadro 2. (24)

FUNCION DEL TIMO

El timo neonatal es la fuente de gran parte de los linfocitos circulantes en la sangre y estos linfocitos son responsables de montar respuestas inmunitarias mediadas por células a las que se les llama **linfocitos T**. En realidad las células T se originan en la médula ósea, pero se transforman dentro del timo después de unirse a los receptores en la pared de capilares tímicos. Una vez dentro del timo, las células (denominadas timocitos) se dividen con rapidez de las nuevas células producidas, la mayor parte muere en el timo, el 25% en los terneros emigran después de un periodo que oscila entre cuatro y cinco días y colonizan los órganos linfoides secundarios. (17)

MADURACIÓN INTRATIMICA DE LAS CÉLULAS T

La maduración que ocurre en los timocitos desde que entran en el timo como célula protimocito hasta su salida como células T maduras, estos eventos se han estudiado en los bovinos utilizando marcadores de fenotipo y genotipo para identificar las fases de estos eventos. El receptor TCR (receptor de células T) esta en la configuración germinal poco después de la entrada del timo, existen cambios en la expresión de moléculas en la superficie de los timocitos que progresivamente van madurando al igual que sus propiedades funcionales cambian, los timocitos también controlan y regulan la interacción de timocitos con otras células del timo, este contacto entre célula y célula es a través de los mediadores solubles como las

citocinas. Existen dos linajes de células T que se distinguen por el tipo de receptor (TCR) expresado en la superficie celular desarrollado dentro del timo y en esta maduración aparecen las células con TCR $\alpha\beta$. (21,32)

Se han realizado estudios con anticuerpos monoclonales para la identificación de células T $\gamma\delta$ la cual es una población menor de timocitos en el desarrollo fetal hasta las fases de adulto, las células T $\gamma\delta$ se esparcen a lo largo del timo, en ese momento existen T19- y el antígeno T 19 es el primero en descubrirse en el timo fetal alrededor de los 55 días de gestación. El desarrollo de las células T $\gamma\delta$ es aproximadamente a los 70-80 días de la gestación y persisten en la vida post-natal, constituyen una población menor en el timo (1-4% de timocitos) la mayoría de ellos se encuentran en la medula del timo. Los linfocitos con TCR $\gamma\delta$ se localizan generalmente en piel, intestino, esófago y tonsilas. (21) (Cuadro 2 y 6.)

PLACAS DE PEYER

GALT (tejido linfoide asociado al intestino [*gut associated lymphoid tissue*]) es el nombre genérico que se le da a los ganglios linfáticos, placas de Peyer y linfocitos individuales que se encuentran en las paredes intestinales. (15)

Las Placas de Peyer son los tejidos linfoides mayores de las mucosas. El ternero recién nacido tiene aproximadamente 76 placas de Peyer individuales (DPP) en el duodeno y el yeyuno una placa continua (CPP) en el ileon la cual se extiende proximalmente y terminalmente en el yeyuno y en el colón proximal. En la madurez sexual (18 meses) la CPP involuciona y 18-40 DPP permanecen visibles en el bovino adulto. La CPP esta constituido por un complejo linfoglandular invaginado dentro de la mucosa. La CPP es un órgano linfoide primario ya que es un sitio de generación de células B equivalente a la bolsa de Fabricio en las aves Las DPP cecales PP colonicos (CoPP) actúan como órganos linfoides secundarios, estos se desarrollan con la edad y desarrollan centros germinales al ser estimulados por un antígeno. (24)

Las placas de Peyer consisten en masas de linfocitos dispuestos en folículos cubiertos por un epitelio que contiene células epiteliales especializadas M (células

con micropliegues) las cuales son responsables del transporte de macromoléculas y procesar proteínas.

La pared intestinal contiene células B que responden al antígeno en forma similar a la de los linfocitos en cualquier otra parte del cuerpo; o sea, se dividen y algunas se diferencian en células plasmáticas. (24,31) (Cuadro 3.)

Algunas de estas células B y T que responden también migran a los ganglios linfáticos regionales y a los intestinales, de donde pasan al conducto torácico y a la circulación sanguínea. Estas células B positivas para IgA que recirculan tienen afinidad por todas las superficies corporales. (24)

El movimiento de las células B secretoras de IgA del intestino a la glándula mamaria es importante, ya que proporciona una vía por la cual la inmunidad intestinal puede transferirse al recién nacido por medio de la leche. (22)

Las células T son el componente efector de los tejidos linfoides intestinales y se encuentran por debajo y entre las células epiteliales. El conjunto de estos linfocitos intraepiteliales pueden constituir hasta el 27% de la población de células epiteliales y 40% del conjunto de células T periféricas. Su cantidad y localización sugieren que tienen una función clave en la defensa del aparato gastrointestinal. (24)(Cuadro 3.)

DISTRIBUCIÓN DE LINFOCITOS EN PLACAS DE PEYER DEL BOVINO.

Células	YEYUNO(DPP)	ILEON(CPP)	COLON(CoPP)
	%	%	%
IgM+	35 (36)	40(24)	51(43)
Células T CD2+	19(39)	3(29)	19(33)
Células T CD4+	11(28)	2(14)	9(22)
Células T CD8+	12(10)	3(16)	11(20)
Células T WC1+	8(6)	2(15)	9(14)

Cuadro 3. Números dentro del paréntesis representan el porcentajes en becerros menores de 1 semana, y los números que están fuera del paréntesis representan los porcentajes en bovinos adultos de 2 a 6 años. (24)

PIEL

La piel tiene origen ectodérmico al igual que el timo se ha comprobado que también se promueve la maduración de linfocitos T, así mismo existe una subpoblación de linfocitos T que solo se encuentra en la piel. Estas células interactúan con los queratinocitos y pueden experimentar cierto grado de maduración en el interior de la epidermis. Además de que la piel constituye una barrera eficaz para atrapar antígenos en ella los linfocitos realizan esta función junto con una red de células dendríticas situadas en la epidermis, las cuales reciben el nombre de **células de Langerhans** las células de este tipo son capaces de presentar antígenos a los linfocitos T cooperadores más cercanos. En los bovinos la mayor parte de células T epidérmicas portan TCR- γ/δ . Los queratinocitos aumentan las actividades de estas células de Langerhans que también poseen antígenos de clase II en su superficie, y son capaces de sintetizar y secretar IL-1, IL-6 e IL-8, con lo que estimula aún más a los linfocitos T.

En el ganado bovino la IgM, IgG1 e IgG2 del suero atraviesan piel por trasudación. Pero parece que la IgA se sintetiza localmente. (31)

ORGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS.

Surgen del mesodermo en una etapa tardía de la vida fetal, persisten durante toda la vida adulta. Se encargan de la estimulación antigénica y por ello se desarrollan poco en animales libres de microorganismos. La extirpación de estos órganos no reduce la manera importante la capacidad inmunitaria del animal. Dentro de los órganos linfoides secundarios están los ganglios linfáticos y el bazo.

(31)

SISTEMA LINFÁTICO

El sistema linfático desempeña un papel importante en el transporte y aprovechamiento, sobre todo de proteínas de gran tamaño y en la eliminación de cuerpos extraños. A este sistema se le ha considerado como un complejo de defensa orgánica. (15,31)

Este sistema está compuesto de capilares, vasos y ductos linfáticos mismos que se encargan del transporte y drenado de la linfa (líquido tisular). Estos se encuentran cerrados y dispuestos en forma de malla, pasando posteriormente a ser vasos linfáticos cuyo principio se reconoce por la presencia de válvulas y por sus paredes (intima, media y adventicia). (15) Fig. 2.

El líquido tisular introduce en las células, sustancias hidrosolubles y moléculas pequeñas, siendo estos los productos generados en su metabolismo. (33)

El tránsito del líquido tisular se lleva a cabo a través de las paredes de los capilares venosos y linfáticos, que por medio de vasos colectores drenan su contenido a los nódulos intercalados, hasta llegar a los grandes vasos venosos (vena cava). (33)

Los nódulos linfáticos están distribuidos en el organismo y cuentan con vasos de entrada y salida, cuentan con una cápsula dividida de la cual salen a su vez trabéculas cada vez más finas hacia el seno del nódulo. El interior del nódulo se divide en corteza, médula y una zona paracortical que divide a la corteza de la médula. En la corteza se localizan linfocitos B dispuesto en nódulos. Mientras no hay estimulación antigénica, estos nódulos recibirán el nombre de folículos primarios. En los nódulos linfáticos ya estimulados por antígenos las células de los folículos se extienden hasta originar centros germinativos compuesto por células B

y células dendríticas foliculares, los cuales se denominan folículos secundarios. En la zona paracortical las células principales son los linfocitos T, los cuales se disponen en nódulos llamados folículos terciarios. (33) Fig.3. (Cuadro 4.y 6)

En la médula se localizan los linfocitos B, macrófagos, células reticulares y células plasmáticas, las cuales se disponen en cordones celulares que separan los senos linfáticos. Estos senos confluyen hacia el hilio del nódulo para formar el seno terminal. Ambos vasos linfáticos se relacionan con sus cavidades sinusales, los vasos aferentes penetran a través de la cápsula nodular y los eferentes salen por el hilio. (33)

En la consistencia, tamaño y color los nódulos linfáticos varían considerablemente. En los animales jóvenes y de crecimiento rápido, los nódulos son más bien prominentes y contienen más líquido; en animales viejos y de edad madura son más firmes y compactos. A veces en vacas lecheras viejas los nódulos linfáticos pueden ser más bien prominentes, pero generalmente son de consistencia fibrosa.. (33) Fig.2.

Las áreas centrales de los nódulos mesentéricos generalmente son más oscuras que el área exterior. Los colores encontrados varían del blanco a gris oscuro, café rojo o hasta negro. (33)

Los nódulos hemolinfáticos difieren de los nódulos linfáticos en color y estructura. Son de color rojo oscuro o aún negros, debido a la alta vascularidad de la sustancia cortical.

Los nódulos linfáticos desempeñan una misión de defensa del organismo al actuar como filtros intercalados en el torrente linfático, las células de las paredes sinusales y del retículo son capaces de atrapar bacterias, pigmentos, lipoides, proteínas y sustancias disueltas. (15,33)

Los antígenos colocados en los tejidos son llevados a los nódulos de la región por el flujo del líquido tisular, mientras que estos cuentan con dos sistemas diferentes de captación del antígeno. El primero recurre a los macrófagos presentes en la médula del nódulo, el otro sistema se basa en la intervención de las células dendríticas, las cuales están en la corteza del nódulo y se les encuentra sobre todo en los folículos secundarios. Esta función del nódulo es muy importante,

dado que ciertas sustancias extrañas tales como los microorganismos infecciosos, si se vertieran por los conductos linfáticos en el torrente sanguíneo, probablemente serían distribuidos por todo el sistema circulatorio y podrían dar lugar a una infección generalizada, que probablemente terminaría pronto en la muerte. (15,33)

DISTRIBUCIÓN HISTOLÓGICA DE SUBPOBLACIONES LEUCOCITARIAS EN LINFONODO BOVINO.

POBLACIÓN	LOCALIZACIÓN
Células CD4+	Paracorteza, esparcidos en los folículos
Células CD8+	Paracorteza
Células T $\gamma\delta$	Paracorteza y corteza y pocas en medula
Células B IgM+	Folículos y centro germinales.
Células dendríticas interdigitales	Paracorteza
Células dendríticas foliculares	Centros germinales
Macrófagos	Medula, centros germinales y pocas en medula.

Cuadro 4. (24)



Fig.2 cabeza de un bovino que muestra que los vasos linfáticos. (31)

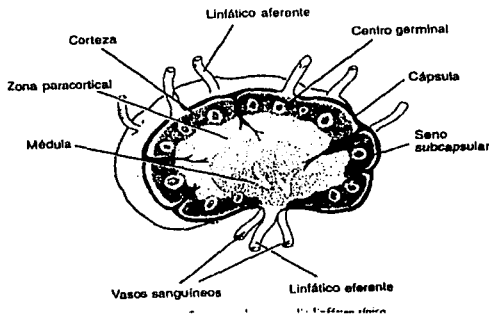


Fig.3. Estructura del ganglio linfático. (31)

EL BAZO.

El bazo bovino es un órgano aplanado y de forma oblongada, situado sobre la porción craneodorsal del rumen, relacionado con la mitad izquierda del diafragma y con fijaciones tanto en el rumen como en el propio diafragma. Su extremo dorsal está situado bajo los extremos dorsales de las últimas costillas y su eje se dirige ventralmente con una ligera inclinación craneal, que se cruza oblicuamente con las costillas. (15) Fig.4.

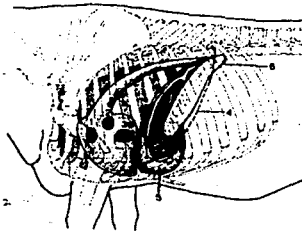


Fig.4 Localización del bazo en el bovino. (31)

El bazo tiene una consistencia relativamente blanda. Su color varía, considerablemente, teniendo a ser azulado grisáceo en las vacas y algo más rojizo en los machos y en los animales jóvenes. Se han descrito dos tipos de bazo: defensivo con pocas trabéculas, fibras musculares y abundante tejido linfocitario y el de almacenamiento con muchas trabéculas y fibras musculares lisas, en bovinos es intermedio. (15)

Las funciones del bazo son: formación de células sanguíneas, metabolismo de hierro y hemoglobina, filtración y almacenamiento de la sangre, destrucción de eritrocitos, fagocitosis, respuesta inmune de tipo celular. (31)

Es por eso que se encuentra dividido en dos compartimientos, uno para el almacenamiento de eritrocitos, captación de antígenos y eritropoyesis, el cual recibe el nombre de **pulpa roja**, y otro en el cual se produce la respuesta inmunitaria, la cual se denomina **pulpa blanca**. (15) Fig.5.

ESTRUCTURA DE LA PULPA BLANCA ESPLENICA.

La vaina linfoide periarteriolar está formada en su mayor parte por linfocitos T. A lo largo de esa vaina se encuentran los folículos primarios, los cuales se encuentran formados en su mayor parte por linfocitos B. Cuando hay una estimulación antigénica, esos folículos desarrollan centros germinales poblados por células B algunas células T CD4+ y en menor cantidad CD8+ y reciben el nombre de folículos secundarios. la pulpa blanca (es decir, la vaina periarteriolar poblada por linfocito T CD4+ y CD8+, los folículos de linfocitos B) esta separada de la pulpa roja por un seno marginal el cual esta poblado por células B, macrófagos y células T $\gamma\delta$, una capa marginal y una zona de células marginales. (16) (Cuadro 5 y 6.) Fig.5.

Distribución leucocitaria en el bazo del bovino.

POBLACIÓN	LOCALIZACIÓN
Células CD4+	Folículos
Células CD8+	Esparcidos en los folículos
Células T $\gamma\delta$	Pulpa roja, zona marginal.
Células B IgM+	Folículos, centro germinales, zona marginal.
Células dendrítica folicular	Centros germinales
Macrófagos	Zona marginal y centros germinales.

Cuadro 5. (24)

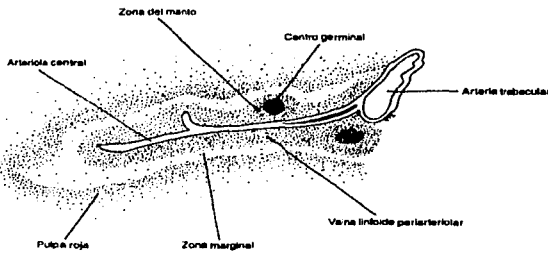


Fig.5. Estructura del bazo bovino. (31)

Distribución de las poblaciones leucocitarias en los órganos linfoides bovinos.

Población	Timo	Infonodo	Bazo
Células T CD3+	46%	25%	49%
Células T CD4+	59%	16%	6%
Células T CD8+	58%	9%	16%
Células B IgM+	-	60%	32%
Macrófagos	-	4%	13%
$\gamma\delta$ TCR+	15%	2%	44%
Células T WC1$\gamma\delta$	5%	3%	3%

Cuadro 6. (24)

CELULAS DEL SISTEMA INMUNE.

Las células del sistema mieloide, derivan de la médula ósea estas células del sistema poseen un citoplasma lleno de gránulos, por lo cual se les llama **granulocitos**. Asimismo todas estas células poseen un núcleo irregular extensamente lobulado y se les denomina **polimorfonucleares**, por oposición al núcleo redondo único de las células **mononucleares**. Los granulocitos se dividen en tres poblaciones, con base en las características tintoriales de sus gránulos. Las células cuyos gránulos incorporan los colorantes básicos, como la hematoxilina se denominan **basófilos**, aquellas cuyos gránulos incorporan colorantes ácidos como eosina se denominan **eosinófilos** y aquellas que no incorporan colorantes ácidos ni básicos se denominan **neutrófilos**. (27) Fig. 6.

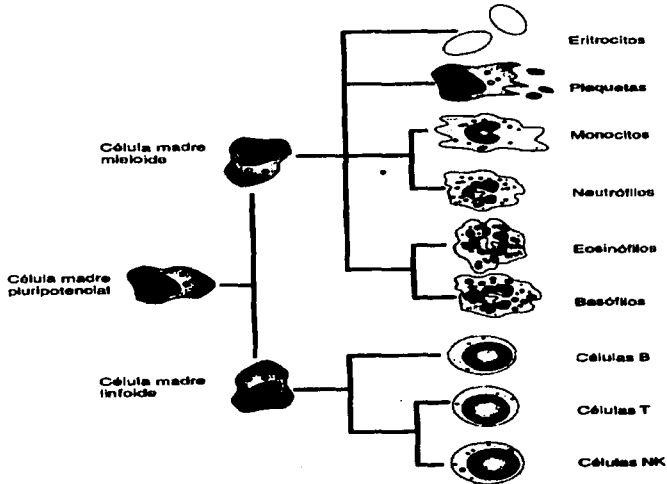


Fig. 6. Origen de las células de la médula ósea. (31)

Neutrófilos: Los bovinos tienen un bajo porcentaje de neutrófilos en la sangre periférica comparándolo con otras especies, constituyen el 20-30% en los bovinos. Los neutrófilos tienen un núcleo lobulado, posee gránulos abundantes pequeños y tienen propiedades tintoriales variables desde color rosa pálido hasta rojo. Los bovinos poseen un tercer tipo de gránulos en el citoplasma que contiene péptido antibacterial, además contienen muchos de las enzimas encontradas en el humano y otras especies pero la concentración varía. Los neutrófilos de los bovinos carecen de lisozima el cual es un componente que se encuentra en mayor cantidad en los neutrófilos humanos. Los neutrófilos del bovino son quimiotácticos, permiten la activación del complemento y metabolizan el ácido araquidónico. Los neutrófilos tienen un receptor Fc para IgM, la cual puede servir como opsonizador. La función de los neutrófilos se ha demostrado que es subóptima en terneros jóvenes y vacas alrededor del parto. (27)

Terapia con glucocorticoides contra agentes infecciosos además de una mala nutrición y defectos genéticos deprimen la función de los neutrófilos y aumentan la susceptibilidad a infecciones, la función del neutrófilo es reforzada por citocinas, se ha demostrado que participan en la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC), además de medir también la citotoxicidad mediada por células independientes de anticuerpos (AICC) ayudado por TNF- α . (24)

Eosinófilos: tienen numerosos gránulos pequeños redondos, rojos que llenan el citoplasma y cubren en forma parcial al núcleo. Aunque éste puede ser lobulado, casi siempre tiene forma de C pertenecen a la familia de células que incluyen células cebadas y basófilos, cuya función es combatir la invasión con la inducción de la inflamación aguda. Los eosinófilos cumplen esta función por medio de la migración a los sitios de invasión parasitaria. Los eosinófilos se desarrollan en la médula ósea bajo la influencia de IL-3 e IL-5 provenientes de las células Th2 y células cebadas. (20)

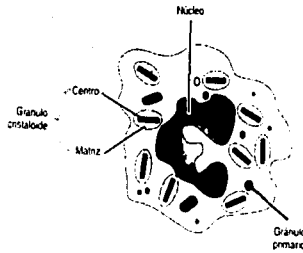


Fig.7. Estructura de un eosinófilo. (31)

BASOFILOS: es el tipo celular menos numeroso, reciben ese nombre debido a sus gránulos citoplasmáticos que se tiñen intensamente con colorantes basofílicos, tales como la hematoxilina. Constituyen cerca de 0.5% de los leucocitos sanguíneos; los basófilos participan en la inflamación, ya que sus gránulos contienen aminas vasoactivas, como la histamina y serotonina. Los basófilos, eosinófilos mantienen una relación funcional ya que favorecen la inflamación aguda. (31)



Fig.8. Basófilo. (1)

CÉLULAS CEBADAS: son células grandes y redondeadas (de 15 a 20 μm de diámetro); se distribuyen por todo el organismo y se encuentran inmersas en el tejido conectivo. Su aspecto más característico es un citoplasma compacto y con grandes gránulos. Existen tres características específicas en los bovinos :

1. La densidad celular en el tracto respiratorio es mayor que en otras especies.

2. La concentración de dopamina es alto en los pulmones de los bovinos, esta dopamina se encuentra en las células cebadas y se libera en la anafilaxis, la dopamina es mediador de la histamina.
3. Los mecanismos de control de las células cebadas en los bovinos es diferente.

La liberación de los mediadores de las células cebadas son inhibidos por β agonistas y exacerbados por α agonistas y colinérgicos que aumentan la liberación de histamina y leucotrienos, en los bovinos los $\alpha\beta$ agonista inhiben la liberación y los colinérgicos aumentan la liberación de los mediadores. (5)

MONOCITOS: la morfología de los monocitos es difícil de caracterizar varían de tamaño y forma. A veces puede observarse un núcleo en forma de hoja de trébol. Esta célula puede confundirse con linfocitos grandes y medianos, aunque el citoplasma se tiñe más oscuro y es más granular, los monocitos son células inmaduras localizadas en sangre y por medio de citocinas maduran y se transforman en macrófagos y son capaces de fagocitar. (31)

MACROFAGOS: Se encuentran en varios tejidos del bovino. Algunos de los macrófagos tisulares son; células de Kupffer en los sinusoides hepáticos, células de la microglia en cerebro, macrófagos alveolares, células dendríticas en la piel, macrófagos del tejido linfoide y macrófagos mamarios. En los bovinos como en otros rumiantes y el cerdo tienen gran cantidad de macrófagos pulmonares intravasculares, estas células juegan un papel en la limpieza en sangre contra bacterias. Los macrófagos del bovino son importantes en los mecanismos de defensa por medio de la fagocitosis, son células presentadoras de antígeno, son más agresivos y eficaces cuando se activan por citocinas durante la respuesta inmune mediada por células, algunas de las poblaciones de macrófagos en los bovinos son capaces de producir (NO_2) óxido nítrico y radicales oxígeno para matar. Una importante función en la defensa inicial es el descargo temprano de citocinas IL-1, IL-6 e INF- α en la respuesta contra agentes infecciosos. (24)

CÉLULAS ASESINAS NATURALES (NK): alrededor de 15 % de los linfocitos de la sangre periférica no son células T ni B, sino que constituyen una población distinta de linfocitos citotóxicos que son las células NK. Se caracterizan por su capacidad para matar células tumorales, infectadas por virus y algunas normales sin sensibilización previa. También tienen una actividad antibacteriana contra microorganismos, en los bovinos pueden atacar células infectadas por parainfluenza (PI3), Herpes Virus Bovino (BHV-1), así como contra algunos hongos. Las células NK en los bovinos son células grandes aunque pueden no contener grandes gránulos intracitoplasmáticos, es probable que las células NK y las T provengan de un precursor común en la médula ósea. No obstante, las células T dependen del timo para su desarrollo, no así las NK. Las células NK no recirculan y tampoco se encuentran en el conducto torácico. Se encuentran ante todo en los órganos linfoides secundarios, en menor cantidad en la médula ósea, y están ausentes del timo normal. Las células NK no expresan TCR (receptor de células T) ni BCR (receptor de células B) no pueden reconocer antígeno por medio de ningún receptor antigénico conocido, estas células tienen otras formas de reconocer a las células blanco que pueden ser células cancerosas o células infectadas por virus. Matan en forma selectiva a las células blanco que no expresan o manifiestan cantidades muy pequeñas de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MHC), al parecer las células NK están programadas para matar con base en señales que se encuentran en la mayor parte de las células con núcleo. Las células NK de los bovinos les falta receptores de superficie CD3, CD4, CD5, CD6 y WC1. (7,27) Fig.9.

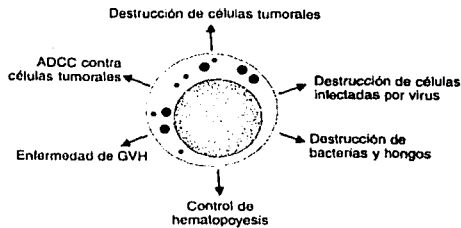
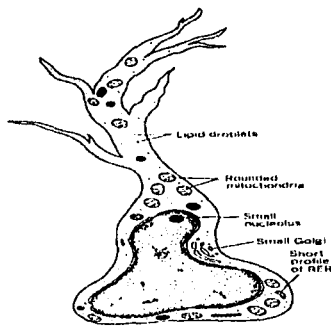


Fig.9. Funciones de las células asesinas naturales NK. (31)

CÉLULAS DENDRÍTICAS: son células presentadora de antígenos que derivan de la médula ósea y están distribuidas en todos los tejidos del cuerpo, dependiendo el lugar donde se encuentren reciben un nombre específico mencionados en el cuadro 7. Los estudios realizados en los bovinos han demostrado que las células dendríticas son heterogéneas y que los diferentes fenotipos tienen propiedades biológicas diferentes, la base molecular de esta variación ha empezado a ser investigada y han llevado a la identificación de un miembro de $SIRP\alpha$ (de la familia reguladora de proteínas) en un subconjunto de células dendríticas en la linfa aferente. La captación del antígeno por las células dendríticas en los bovinos se realiza a través de varios mecanismos que pueden involucrar la endocitosis así como la macropinocitosis. Estructuralmente esta formada por un citoplasma irregular alargado, en su interior tiene gotas lipídicas, mitocondrias redondas, un núcleo simple, aparato de golgi pequeño y retículo endoplásmico pequeño. (18) Fig.10.



- gotas lipídicas.
- Mitocondrias redondas.
- Núcleo simple, nucleolo pequeño.
- Aparato de Golgi pequeño.
- Reticulo endoplasmico reducido.

Fig.10. Célula dendrítica. (1)

CÉLULA	TEJIDO
Interdigitante	Medula, timo
De zona marginal	bazo
Células de Langerhans	epidermis
Células Veiled	Linf a aferente
Intersticial	Corazón, riñón

Cuadro 7. (1)

Células "veiled" (veiled cells ALVC): ocupan el 10-20% de los leucocitos se encuentran en la linfa aferente de la piel de los bovinos es una población no homogénea, se han definido dos subpoblaciones basándose en la expresión de antígeno superficie y por citometría de flujo las cuales tienen diferentes propiedades. Todas las ALVC expresan el antígeno WC6 (workshop cluster scavenger receptores de basura) así como MHC (complejo mayor de histocompatibilidad) clase II dentro de esta población de células las células WC6+ eran una población de CD11a+ (llamado integrina cumple una función clave en la unión de estas células al endotelio vascular) ALVC eran CD5+, WC10+ y MyD1⁻. El antígeno MyD1 (familia de proteínas reguladoras) fue identificado por tres anticuerpos monoclonales (IL-A24, CC149, CC156) existe otra población en la cual se utilizó el anticuerpo monoclonal CC81. (18) (Cuadro. 7)

No se ha establecido la relación de ALVC con las células dendríticas, posiblemente estas células representan ser células dendríticas dérmicas, recientemente se han hecho estudios en cultivos con citocinas y se ha establecido que derivan de precursores de CD34+ (ligando de las integrinas se expresa en células endoteliales) además también se han realizado estudios para determinar sus funciones. Tienen la habilidad de inducir respuesta alogénica de células T lo cual es característico para inducir su capacidad de estímulo. Además contribuyen con las células T en la respuesta proliferativa, la respuesta proliferativa inducida por CD4+ o por CD11a+ o CD11a⁻ es más extensa es ligeramente menor con las ALVC CD11a⁻, sin embargo la respuesta proliferativa inducida por CD8+ es mucho más grande con CD11a⁻ comparándolo con CD11a+. (18) (Cuadro.7)

LINFOCITOS: Los linfocitos constan de diferentes subgrupos que difieren en sus funciones y productos proteicos aunque todos ellos parecen morfológicamente similares. (14)

Linfocito B: así llamados porque se observó en las aves que maduraban en la bolsa de Fabricio. En los bovinos, no hay equivalente anatómico de la bolsa y las primeras fases de maduración de la célula B tienen lugar en la médula ósea.

Así, el término linfocito "B" se refiere al derivado de la bolsa o de la médula ósea. *Los linfocitos B son las únicas células capaces de producir anticuerpos. Los receptores para los antígenos en los linfocitos B son formas de anticuerpos unidos a la membrana. La interacción de los antígenos con estos anticuerpos de membrana inicia la secuencia de activación de la célula B, que termina en el desarrollo de células efectoras que secretan activamente anticuerpos.* (1) Fig.11.

. (1) Fig.11.

Linfocitos T: La segunda clase principal de linfocitos en los bovinos son los linfocitos T, provienen de la médula ósea y después migran y maduran en el timo (el nombre de linfocitos T se refiere a que derivan en el timo). Se subdividen en poblaciones funcionales distintas, siendo las mejores definidas las **células T cooperadoras** y las **células T citotóxicas**. *Las principales funciones son regular todas las respuestas inmunes frente a antígenos proteicos y ayudar en su calidad de células efectoras en la eliminación de microorganismos intracelulares.*, las células T no producen anticuerpos. (14) Fig.11.

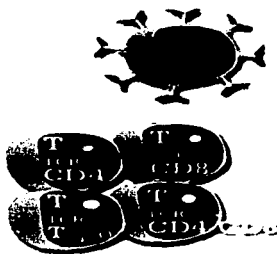


Fig.11. Linfocitos T, CD4 cooperadores y CD8 citotóxicos y linfocitos B.

LINFOCITOS DEL BOVINO.

Los bovinos tienen antígenos múltiples de superficie específicos de su especie que van de WC1 (moléculas mayores sin función conocida) a WC15 (WC3 es CD21). A diferencia del ser humano y los roedores, en los rumiantes jóvenes las células T CD4⁺ CD8⁻ representan una gran proporción (de 15 a 30%) de los linfocitos de la sangre periférica (la cifra llega hasta 80% en las terneras recién nacidas). La mayor parte de estas células doblemente negativas contiene TCR- $\gamma\delta$ y expresa WC1. Por consiguiente, la población de linfocitos T circulantes en los rumiantes ($\gamma\delta$ + WC1+ CD4-CD8-) es muy distinta de la que se observan en la sangre periférica del ser humano y los ratones ($\alpha\beta$ +, WC1-CD4+, CD8-). Los linfocitos $\gamma\delta$ +, WC1+ de bovino también expresan CD3 y CD5, pero no CD2. Se observan abundantes linfocitos TWC1+ en los epitelios como la piel, los ganglios hemolinfáticos y algunas partes del timo. El ganado vacuno también muestra una pequeña proporción de células T $\gamma\delta$ + WC- en la sangre. Estas células forman gran parte del calostro. En los rumiantes adultos se detecta CD4 del 20% a 30% de los linfocitos sanguíneos. (9,14,19)

CD4. (LINFOCITOS T COOPERADORES)

Las moléculas de CD4 funcionan uniéndose con la región invariante de la cadena β del MHC clase II el dominio del citoplasma se asocia con la tirosinasa lo que lo involucra en la fosforilización de los componentes de CD3 durante la transducción de señales, se ha demostrado que las células CD4+ con restringidas para MHC clase II. Se han realizado experimentos *in vivo* con Mab (anticuerpos monoclonales) específico para el antígeno CD4 en terneros y corderos en los cuales se ha demostrado la participación de estas células en la producción de anticuerpos para antígenos T dependientes. Las células T CD4+ se encuentran en gran manera en la paracorteza de los nódulos linfáticos, también se localizan en la región interfolicular de las placas de Peyer, tonsilas y en la región periarteriolar del bazo, en la mucosa intestinal existen células CD4+ en la lamina no dentro del epitelio. (13,21) Cuadro 6. Fig.12.

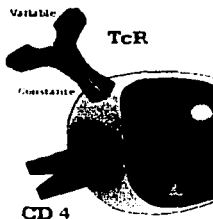


Fig.12. Linfocito T CD4 positiva.

CD8. (LINFOCITOS T CITOTOXICAS)

Representan la segunda población mayor de células T, funcionan de una manera análoga a CD4, estas células son restringidas a MHC clase I ligándose a la parte invariante del dominio $\alpha 3$ de la cadena pesada de clase I. Se han realizado investigaciones en cuanto a su función y se ha demostrado que tienen una actividad citolítica, estas células responden contra células infectadas por virus y parásitos protozoarios. Se encuentran en gran cantidad en la paracorteza de los nódulos linfáticos, tonsilas, placas de Peyer y en la región periarteriolar del bazo,

en la pulpa roja del bazo en terneros jóvenes y en la mucosa intestinal donde se encuentran principalmente en el epitelio.(21) (Cuadro 6.)

La relación que se ha encontrado CD4: CD8 en secreciones mamarias es de 0.85:1 en contraste con la relación en la sangre que es de 1.50:1 indicando que es más abundante CD8 en estas secreciones.

Estudios *in vivo* han demostrado el papel de estas células disminuyendo los niveles de virus sintial bovino en pulmón y la infección por rotavirus en el intestino del bovino, estos estudios indican que las células T CD8+ juegan un papel importante en la resolución de infecciones primarias por virus en mucosas. (14,21) Fig.11.

WC1. WORKSHOP CLUSTERS

Los linfocitos de las principales especies domesticas poseen una variedad de proteínas de superficie que no se observa en el ser humano ni en el ratón. De éstas, la mejor definida es BoWC1 esta molécula es un heterodímero con cadenas de 215 y 300 kDa. Su cadena de bajo peso molecular tiene 11 dominios extracelulares, un dominio transmembrana y un dominio citoplásmico se sustituye el CD por el WC. Se han definido el WC2 que es TCR-1 y el WC3 que es CD21. (21,24) (Cuadro.8)

Forman parte de una familia multigénica que comprende por lo menos siete miembros. Esta familia es llamada familia de receptores de basura, ricos en cisteína (*scavenger receptor cysteine rich family*, SRCR). WC1 es expresado en la mayoría de las células T $\gamma\delta$ en sangre. Comprenden el 25% de las células mononucleares de la sangre periférica de terneros jóvenes y representa una población menor de los linfocitos intraepiteliales del intestino, desarrollan un papel en la activación de células T $\gamma\delta$. (17,24) (Cuadro.8)

Además de estos receptores de superficie mencionados se han descubierto otros receptores en los bovinos gracias a los anticuerpos monoclonales tales como: (24)

CD RECEPTOR	<i>Principal expresión celular</i>	<i>Funciones conocidas</i>
CD1	Timocitos, células dendríticas	Presentación de antígenos no peptídicos a algunas células T
CDW1	Células de langerhans, veiled cells	
CD2	Células T, imocitos	Molécula de adhesión; activación de células T
CD3	Células T	Se asocia al receptor al antígeno de la célula T; traducción de señales como resultado de reconocimiento del antígeno por células T.
CD5	Células T; subpoblación de células B	Molécula de adhesión.
CD6	Subpoblación de células T y algunas B	Papel en la activación de la célula T
CD11a	leucocitos	Adhesión se une al ICAM-1
CD11b	Granulocitos, monocitos	Adhesión
CD14	Monocitos	Receptor del LPS ¿papel en el estallido respiratorio?
CD21	Células B maduras	Papel en la activación de células B
CD41	Plaquetas	Agregación y activación de plaquetas.
WC5	Células B	
WC6	Células B, células veiled	
WC7	Células T y B Células tímicas.	
WC8	Células T	
WC10	Células T y B Células tímicas.	
WC11	Leucocitos y plaquetas	

Cuadro.8 (24)

COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

El complejo principal de histocompatibilidad (MHC *Major Histocompatibility Complex*) es una región de genes muy polimórficos cuyos productos se expresan en la superficie de varias células, sus genes desempeñan un papel central en la respuesta inmune frente a antígenos proteicos, ya que los linfocitos T específicos para un antígeno no lo reconocen de forma libre ni de forma soluble, sino que reconocen porciones de los antígenos proteicos unidos de forma no covalente a productos génicos del MHC. Las moléculas del MHC son glicoproteínas receptoras especializadas, codificadas por genes que se localizan en el complejo genético y que proporcionan un sistema para presentar los péptidos antigénicos a las células T. (6) Fig. 13 y Fig. 14

Los estudios realizados durante los últimos años sobre el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de los bovinos han ido trazando una imagen razonable detallada de la organización genética y las funciones de los genes que configuran dicho sistema genético. El análisis serológico y bioquímico de los antígenos de superficie de los linfocitos brindó las primeras pruebas de la existencia de genes MHC extremadamente polimórficos en los bovinos y otras especies de ruminantes. De ahí que el MHC de los bovinos recibiera el nombre de sistema de antígenos leucocitario bovino (*bovine leucocyte antigen system, BoLA*). Durante los últimos diez años han venido usándose técnicas de biología molecular para determinar el número de genes del MHC y caracterizar su secuencia y elucidar su estructura fina en diversas especies de ruminantes; el MHC de los bovinos, y posiblemente de los ovinos y caprinos, exhiben una organización genética característica. (4)

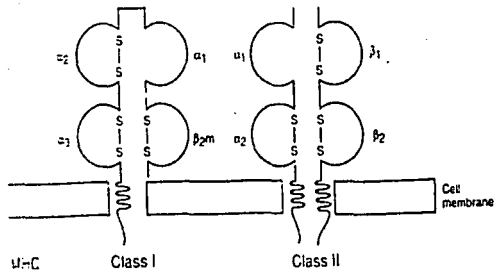


Fig.13. Representación esquemática del MHC clase I y MHC clase II. (31)

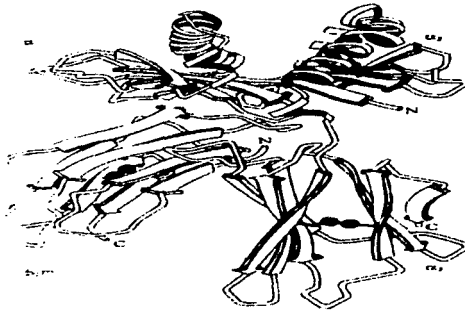


Fig.14. Representación esquemática tridimensional del MHC clase II. (31)

EL SISTEMA BoLA

Esta región BoLA probablemente está ubicada en el cromosoma 23, Se divide en cuatro regiones, clase I, clase IIa, clase IIb y clase III. La clase I se ha aceptado internacionalmente un locus de clase I con base en pruebas serológicas (BoLA-A), aunque hay pruebas de la existencia de un segundo *locus* de clase I (BoLA-B). El análisis molecular sugiere que la región de clase I contiene más de 15 genes. El *locus* A tiene 32 alelos serológicamente definidos y por lo menos otros cuatro putativos, aunque todavía queda una alta frecuencia de alelos nulos. Dos alelos (BoLA-w25 y BoLA-w32) pueden originarse en el locus BoLA-B. (31) Fig 15.

Las moléculas bovinas de clase II son similares a la que se observan en otras especies que contienen una cadena alfa de 33 kDa y una cadena beta de 28 kDa. La región bovina de clase II tiene una estructura similar a la que se encuentra en otros mamíferos, excepto que los genes de clase IIb se separan de los genes clásicos de las clases I o IIa por la brecha de 17cM (centimorganes). El complejo clásico contiene una cantidad variable de genes DQ: Algunos animales tienen genes DQA y DQB únicos; otros tienen dos DQA y un DQB, y otros más tienen dos de cada tipo. Por lo menos, existen tres genes DRB; uno de los cuales (DRB1) es un pseudogén. El *locus* que se expresa más es DRB3, y DRB2 es el único que se expresa a valores bajos. El complejo también contiene un gen DOA y uno DNA. La región genética de clase IIb contiene genes DOB, DYA y DYB y un gen único más, llamado DIB, así Los genes DIB y DOB no se expresan en los linfocitos periféricos de los bovinos. (6)

Los bovinos no cuentan con genes DP. La región MHC de clase II de estos animales contiene los genes para C4 (el cuarto componente del complemento) y para el factor B (Bf) que se localiza en el punto 3' de la región de clase I. (6) Fig. 15.

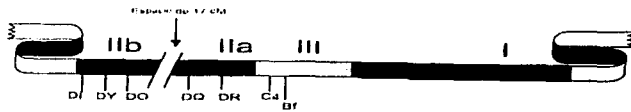


Fig.15. Estructura del MHC bovino. (31)

GEN DR:

En estudios realizados en Francia por Amills, et al. en 1998 han observado que de la cadena α de la molécula DR se ha identificado solo un alelo del gen DRA, Bola-DRA, por el contrario los genes de la cadena β de la molécula DR son polimórficos. El polimorfismo es principalmente en el segundo exon que es la porción variable del sitio del péptido, el segundo exon con un alto polimorfismo es DRB el cual es un gen característico en bovinos, cabras, ovejas, ciervo rojo y otras especies de rumiantes salvaje. En los bovinos el gen DRB tiene tres sitios pero solo uno es funcional; la existencia del polimorfismo de la cadena β aumenta la posibilidad de obtener una respuesta inmune eficaz contra péptidos que notablemente cambian en su estructura. (4)

El estudio sobre el polimorfismo del gen DRB ha sido útil en la historia del MHC en las diferentes especies de rumiantes ya que al estudiar animales como el alce y estudiar ganado bovino de continentes como África y de Europa han permitido observar la evolución genética de la molécula de MHC clase I y clase II, al igual que han podido determinar cambios que pudiera tener en el futuro. (4)

GEN DQ:

Por el contrario a los genes DRA, los genes de DQA son polimórficos. Este significativo aumento de diferentes moléculas de DQ se expresan en la superficie celular y aumenta la capacidad de expresión del antígeno.

En los bovinos existen de 2 a 3 genes DQA, considerando que existen 4 diferentes del gen DQB, DQB2, DQB3 y DQB4 pero solo pueden encontrarse en haplotipos reproductivos DQB1, DQB2 y DQB3. (4)

MOLÉCULAS DR Y DQ:

En los bovinos se expresan en la superficie moléculas DR y moléculas de DQ las cuales se han demostrado usando anticuerpos monoclonales. (4)

La eficaz interacción entre el péptido y la molécula de MHC determinan la naturaleza y la capacidad de la respuesta inmune por células T las cuales influyen en el transcurso de la enfermedad. (4)

Estudios que se han realizados por Hedge, et al. en 1998 en el ganado bovino definen la estructura de los péptidos que ligan las moléculas de clase I y se ha demostrado que los péptidos que se expresan en las moléculas de clase I son monómeros y la posición 2 está preferencialmente ocupada por residuos de prolina. Bamford, et al. en 1997 analizó los péptidos que son expresados por BoLA-A20 estudiando células fibroblásticas de bovino infectadas por el virus de parainfluenza tipo 3, dónde concluyó que los péptidos son monómeros y contienen lisina y arginina. Lierop, et al. en 1998 estudio la expresión en enfermedades de la boca por virus, además de estudiar los haplotipos y observo que de acuerdo a la selección específica de péptidos hay una mejor respuesta mediada por la proliferación de citocinas. Tomando estos estudios se sugiere que la base de la molécula de MHC depende de las características de los péptidos. (2,4,6)

MOLÉCULAS DEL MHC Y ENFERMEDADES.

Ya que la función de las moléculas del MHC es presentar antígenos al sistema inmunitario, los genes MHC regulan la función inmunitaria. Una molécula sólo puede estimular una respuesta inmunitaria si antes se une al surco de una molécula del MHC. Si aquella molécula no puede enlazarse con el surco de por lo menos una molécula del MHC, no desencadenara una reacción inmunitaria. En consecuencia, estos genes influyen también en la susceptibilidad a enfermedades en las cuales la respuesta inmunitaria desempeña una función relevante. Así, se tienen pruebas de que en los bovinos existe una asociación entre la posesión de ciertos antígenos BoLA y la resistencia a la leucosis bovina, carcinoma ocular de células escamosas, tripanomiasis y susceptibilidad a la garrapata *Boophilus microplus*.(2)

Los bovinos con alelos BoLA-Aw8 tienden más a ser seropositivos a la leucosis, una enfermedad viral causada por el virus de la leucemia bovina (*bovine leukemia virus, BLV*). La resistencia se vincula con la posesión de BoLA-Aw7 y la susceptibilidad está asociada con la posesión de BoLA-Aw12. La proliferación de células B y expresión de tumores de células B están controladas por BoLA. Por tanto, el MHC también controla las últimas etapas de la leucemia viral bovina. Parece que BoLA-Aw14 influye en la edad de seroconversión. Es probable que BoLA-Aw12 se asocie con la susceptibilidad a la proliferación de las células B: No obstante, estas asociaciones con el *locus* clase I son relativamente débiles, si se les compara con la relación entre la susceptibilidad y algunos de los alelos DRB de clase II, como DRB3. En realidad, la susceptibilidad a la leucocitosis persistente se relaciona con la presencia de los aminoácidos glu-arg en el sitio de unión antigénica de DRB3 en las posiciones 70 y 71.(2) (Cuadro. 9)

Ciertos alelos BoLA se vinculan con un aumento de mecanismos de defensa inespecíficos, como el número de neutrófilos en la sangre y una citotoxicidad celular intensificada. Por ejemplo, el alelo BoLA-Aw16 se relaciona con resistencia a la mastitis. (La presencia de la molécula M' de grupo sanguíneo también se

vincula con dicha resistencia y en fecha reciente se demostró que el epitopo M¹ se localiza en Aw16). Se ha demostrado que BoLA-Aw6 y BoLA-Aw16 están asociados con una alta respuesta de anticuerpos contra la albúmina sérica humana, y BoLA-Aw2 con una baja respuesta. (2,6) (Cuadro.9)

BoLA Y RELACION CON ENFERMEDADES

ENFERMEDAD	RAZA	BoLA	EFEECTO
Leucosis bovina enzoótica	Holstein	A14	tardado
	Holstein	A15	rápido
	Guersey	A21	tardado
Mastitis clínica.	Norwegain rojo	A16	resistente
	Norwegian rojo	A11	susceptible
	Holstein	CA42	susceptible
Mastitis subclínica.	Holstein	A15	alto
	Simmental		
Helmintos nematodos	Belmont rojo	A7, ca36	resistente
	Hereford	A9	susceptible
Protozoarios	Bos indicus	Clase I	Entra el parásito
<i>Theileria parva</i>			
<i>Boophilus microplus</i>	Braham, Shorthon	A6, A7	resistente
	Belmont rojo	A19	
Cetosis	Norwegian rojo	A2, A13	resistente
Retención placentaria	Dutch Friesian	compatibilidad	susceptible

Cuadro 9. (24)

INMUNOGLOBULINAS DEL BOVINO.

Una vez que se inicia la respuesta inmunitaria, se desprende de las células B hacia el líquido circundante, luego de lo cual estos receptores solubles pueden actuar como anticuerpos. Se adhieren específicamente los antígenos y apresuran su destrucción o eliminación. Muchos líquidos del cuerpo contienen anticuerpos, pero éstos son más abundantes en el suero. Los anticuerpos deben defender al animal contra una gran variedad de agentes nocivos, como bacterias, virus y protozoarios. Actúan también en muchos ambientes distintos, como la sangre, la leche y las superficies del organismo. Por ello no es de extrañar que existan múltiples clases de inmunoglobulinas. Cada clase actúa mejor en un ambiente específico; por ejemplo, la IgA se desempeña mejor en las superficies del organismo; en el caso de IgE funcionan mejor contra los parásitos. (3,20,29)



Fig.16. IgG2

NATURALEZA DE LOS ANTICUERPOS.

Las moléculas de anticuerpos son glicoproteínas a las que se han dado el nombre de inmunoglobulinas. Fig.16.

El término **inmunoglobulina** se aplica a todos los (receptor antigénico de células B BCR) solubles. Las inmunoglobulinas reflejan la heterogeneidad estructural de los BCR. En los bovinos existen 4 clases de inmunoglobulinas IgM, IgG, IgA e IgE, y tres subclases de IgG (IgG1, IgG2 ,IgG3) y cuatro cadenas ligeras tipo λ y κ . (8) Fig.17.

La cadena ligera de los bovinos es compartida por todas las clases de inmunoglobulinas en contraste con los primates, lagartos y roedores, la mayoría de las cadenas ligeras (arriba del 90%) en los bovinos son tipo λ , sin embargo no

se han especificado los isotipos que existen tipo λ y κ no han sido estudiadas las proporciones λ : κ que existen

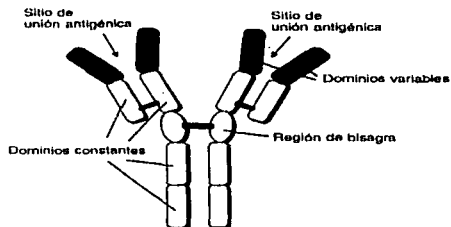


Fig.17. Estructura de IgG prototipo molecular de las inmunoglobulinas. BCR típico.

(31)

La clase de inmunoglobulina que más abunda en el suero es la inmunoglobulina G (IgG). La IgG es producida y secretada por las células plasmáticas del bazo, los ganglios linfáticos y médula ósea, tiene un peso molecular de 180kDa posee dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas gamma, las cadenas ligeras son de tipo kappa o lambda es la inmunoglobulina más pequeña. Según la nueva nomenclatura propuesta por el taller de inmunoglobulinas del comité de Inmunología Veterinaria en Iowa E.U.A. La IgG se divide en tres subclases IgG1, IgG2, IgG3. Los alotipos descritos de IgG2 son A1 y A2 antes llamada IgGa, en la actualidad se renombra como IgG2a e IgG2b según la nomenclatura recientemente propuesta, la secuencia de aminoácidos de las dos cadenas polimórficas muestran 4 regiones: (8,24)

- 1) La región alrededor de la unión L-H. (cadena pesada y ligera)
- 2) En medio de la bisagra.
- 3) La región del séptimo aminoácido al principio de la cadena.
- 4) Arginina y glutamina se intercambian en el intradominio CH₃

La IgG1 es más sensible a la pepsina pero más resistente a la tripsina que la IgG2 en una mezcla que contenga IgG1, IgG2 la pepsina se pegará a la IgG1 en la

porción Fab y la porción Fc se fragmentará en 30 minutos mientras que la IgG2 no sufrirá ningún cambio. Comparando la secuencia de $\gamma 1$ y $\gamma 2$ existe diferencia en la región de la bisagra de CH₂ parecen iguales pero muestran diversidad en la cadena $\gamma 2$ esto explica la diferente capacidad de las dos subclases para Fc receptor (FcR) que se encuentra en las células de memoria que presenta el calostro. (8)

En los bovinos la concentración de IgG2 es hereditaria, así que varía entre individuos. El ganado bovino posee un receptor Fc único en sus macrófagos y neutrófilos, que desde el punto de vista estructural difiere de los demás receptores Fc y sólo se adhiere a IgG2. Puesto que la IgG2 del bovino tiene una región de bisagra muy pequeña, es probable que este receptor represente una adaptación especial a la estructura dicha inmunoglobulina. (8) Fig.16.

La IgG2 también se transfiere al intestino y a la saliva de los bovinos, la IgG puede tener una importancia protectora mayor en las vías respiratorias que en el intestino, ya que es menos probable que la degraden las proteasas. Bastida. C et al. en 1999 realizó estudios en la Universidad de San Diego California en donde se observó que animales con deficiencia en IgG2 tiene una alta incidencia a infecciones por bacterias extracelulares debido a que es mejor opsonizador que IgG1 y activa la cascada del complemento y al parecer este isotipo protege contra mastitis estafilococal, se dice que este anticuerpo es específico en infecciones piogénicas, además se dice que La IG2b es más eficiente que IgG2a en la activación de la vía clásica del complemento. (3,8)

La segunda más abundante en el suero de la mayor parte de los mamíferos es la inmunoglobulina M (IgM) también es producida y secretada por células plasmáticas en el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea, cuando se localiza en la superficie de las células B y actúa como BCR, es un monómero de 180 kDa, sin embargo cuando se secreta es un polímero de cinco o a veces de seis subunidades de 180 kDa enlazadas en un círculo por puentes de disulfuro, su peso molecular es de 900 kDa contiene un pequeño polipéptido rico en cisteína denominado **cadena J** (15kDa) el cual une a dos de las unidades para complementar el círculo. La IgM es la clase de inmunoglobulina que se produce en

mayor cantidad en una respuesta primaria, en los bovinos la IgM aparece de forma pentamérica . (24)

La tercera en abundancia en los bovinos es la inmunoglobulina A (IgA) ,cada molécula de IgA tiene un peso molecular de 150 kDa, pero es secretada normalmente en forma de dímero tiene una estructura típica de cuatro cadenas, dos de ellas son ligeras, apareadas, y dos pesadas alfa que contienen tres dominios constantes. La IgA predomina en las mucosas, se encuentra en cantidades importantes en la saliva, líquido intestinal, secreciones nasales y traqueales, lágrimas, leche, calostro, orina y en secreciones de las vías urogenitales. (Cuadro10) Esta inmunoglobulina parece haberse desarrollado especialmente para proteger las superficies corporales. La IgA es sintetizada y secretada por las células plasmáticas ubicadas entre otros lugares en la submucosa intestinal, esta inmunoglobulina no es bactericida y activa al complemento sólo por la vía alterna; neutraliza algunos virus, así como algunas enzimas virales , puede actuar como una opsonina además funciona en algunos sistemas de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, sin embargo, su contribución más importante es impedir la adherencia de bacterias y virus a las superficies epiteliales; o sea, la exclusión inmunitaria, si las bacterias y virus no pueden adherirse a las células epiteliales del intestino, simplemente pasarán de largo con el contenido intestinal y se expulsarán sin que hagan daño alguno. Las células epiteliales de órganos como el intestino expresan receptores Fc específicos para moléculas de IgA dimerica y reciben el nombre de **receptor poli-Ig** o **componente secretor**. Inicialmente el componente secretor se une a la IgA en la superficie basal de las células epiteliales en contacto con la sangre la IgA ligada es transportada mediante vesículas a través de la célula hasta la superficie luminal. Sorprendentemente la IgA no es simplemente liberada, sino que el componente secretor es escindido específicamente dejando un componente peptídico unido a la molécula de IgA dimerica se llama **pieza secretora**. Una vez en las secreciones mucosas, la IgA actúa neutralizando agentes lesivos. (1,28) (cuadro 10)

La inmunoglobulina E (IgE), cuya concentración en suero es baja es una inmunoglobulina típica, de cuatro cadenas y en forma de Y, con cuatro dominios constantes para sus cadenas pesadas épsilon y un peso molecular de 190 kDa, actúa como mediadora de las reacciones alérgicas, otra de su función es complementar a la IgA en la protección de las superficies corporales. La IgE se encuentra unida a los mastocitos dentro de las paredes intestinales , respiratorias y en la piel,(Cuadro 10) la respuesta mediada por IgE solo podrá desencadenarse cuando los microorganismos invasores evadan a la IgA y penetren a los tejidos, esta respuesta implica una desgranulación rápida de los mastocitos y la liberación de las moléculas vasoactivas potentes hacia los tejidos circundantes, estas moléculas aumentan la permeabilidad de los pequeños vasos sanguíneos y ocasionan el derrame de líquido que contiene grandes cantidades de IgG y el desarrollo de una inflamación aguda. (3,28,29,)

Concentraciones (mg/ml) de Ig (subclases) en fluidos corporales .

	IgM	IgG1	IgG2	sIgA
Bilis	-	0.10	0.09	-
Líquido Broncoalveolar.	0.03	0.13	0.24	0.24
Calostro	6.77	46.4	2.87	5.36
Líquido Intestinal		0.25	0.06	0.24
Leche	0.086	0.58	0.005	0.081
Secreción nasal	0.04	1.56		2.81
Saliva	0.006	0.034	0.016	0.34
Líquido seminal		0.13	0.11	0.13
Suero	3.05	11.2	9.2	0.37
Líquido sinovial	0.37	2.02	1.20	0.68
Lagrimas	0.176	0.32	0.01	2.72
Orina		0.009		0.001

Cuadro10. (24)

CITOCINAS

Las citocinas son proteínas secretadas principalmente por células del sistema inmune en respuesta a la presencia de microorganismos o antígenos, siendo mediadoras de muchas de las funciones de estas células en la respuesta inmune innata y adquirida.

Dependiendo de la fase de la respuesta inmune donde se produzcan pueden tener efectos que estimulen el crecimiento, diferenciación celular, incremento en las funciones celulares etc. (13)

PROPIEDADES GENERALES:

- ☛ La secreción de citocinas es un evento breve y auto-limitante que dura de horas a unos pocos días. Las citocinas no son almacenadas como moléculas preformadas, su síntesis usualmente inicia con la transcripción del gene de la citosina como resultado de la activación celular. Este proceso transcripcional es transitorio y el mRNA que codifica para la mayoría de las citocinas es inestable, de ahí que la secreción de estas proteínas sea también transitoria; además de que también puede ser controlada por procesamiento postranscripcional del RNA, como la liberación del producto activo a partir de un precursor inactivo mediante proteólisis.
- ☛ Su acción es generalmente pleitrópica y redundante. El pleiotropismo es la habilidad de las citocinas para actuar en diferentes tipos celulares permitiéndole mediar diferentes efectos biológicos. (12)
- ☛ Las citocinas influyen en la síntesis y acción de otras citocinas. Este hecho puede llevar a la presentación de "cascadas" con varias citocinas se produciéndose efectos de adición, antagonismo o sinergia. (12)
- ☛ Pueden tener efectos locales o sistémicos. La mayoría de las veces actúan a nivel local, ya sea de forma autócrina o parácrina; aunque cuando se producen en grandes cantidades su acción puede ser endocrina. (12)
- ☛ Inician su acción después de unirse a receptores de membrana específicos de muy alta afinidad en las células blanco, requiriéndose muy pequeñas cantidades de citocina para ocupar los generalmente escasos receptores y así producir su efecto biológico.

- Existen señales externas que regulan la expresión de los receptores y por lo tanto también la sensibilidad de las células. Como por ejemplo la estimulación antigénica de linfocitos T y B incrementa la expresión de receptores para ciertas citocinas. También las propias citocinas regulan la expresión de los receptores de otras citocinas o de los propios observándose retroalimentación positiva o negativa. (12,13)
- La mayoría de las respuestas celulares a las citocinas corresponden con cambios en la expresión de genes que llevan a la expresión de nuevas funciones o a la proliferación. Existen dos excepciones: las quimiocinas no inducen estas respuestas para provocar migración celular y el TNF induce muerte celular sin la síntesis de nuevas proteínas. (12,13)

El conocimiento sobre las citocinas en el bovino se ha incrementado a partir de la aplicación de técnicas de biología molecular.

Actualmente en los bovinos, el método de investigación que se utilizan para la expresión de genes de las citocinas es la reacción en cadena de la polimerasa y transcriptasa en reversa de reacción en cadena de polimerasa. (RT-PCR) debido a su alta sensibilidad. El estudio de las citocinas está basado en la expresión de mRNA el cual es un indicador exacto y fiable de los niveles de proteína de la citocina. (24)

Citocinas reguladoras de la inmunidad natural en los bovinos:

Citocina	tamaño	Fuente celular	Célula Diana	Efectos basicos en cada célula diana
INF tipo I I	18kD	Fagocitos mononucleares, fibroblastos	(a)Todas (b) Células NK	(a)estado antiviral, expresión MHC clase I. (b)Activación.
Interleucina 15 (IL-15)	13kD	Fagocitos mononucleares	Células NK y Células T	Proliferación
IL-12	35kD,40kD	Fagocitos mononucleares, células dendríticas	Células Nk y Células T	Síntesis de IFN- γ , diferenciación de células T CD4+
Factor de necrosis tumoral TNF	17kD	Fagocitos mononucleares, células T	(a)Neutrófilo (b)Célula endotelial (c) Hipotálamo (d) Hígado (e) Músculo	(a)Activación inflamación (b) Coagulación. (c) Fiebre.
IL-1	17kD	Fagocitos mononucleares	(a)Célula endotelial (b) Hipotálamo (c) Hígado (d) Músculo (e) Timocito	(a)Activación inflamación coagulación. (b) Fiebre (c) Catabolismo (d) Coestimulación.
Il-6	26kD	Fagocitos mononucleares células endoteliales, células t	(a)Célula B madura (b) hígado (c) Timocito	(a)Crecimiento (b)Coestimulación.
Quimiocina	8-10kD	Fagocitos mononucleares células endoteliales, células fibroblastos, plaquetas	(a)Leucocitos	Quimiotaxis, quimioquinesis, adhesión y activación.

Cuadro 11. Abreviaturas: INF, interferón, kD, kilodalton, MHC complejo mayor de histocompatibilidad, NK asesina natural. (24)

Citocinas clonadas del bovino, origen y actividades biológicas en las células bovinas y localización cromosomal de algunas citocinas del bovino.

Citocinas/receptor	Tejido o célula	Actividad biológica	Localización Cromosomal
IGF-1R ^a 72R ^b IGF-1y2 receptores. LIF ^a (factor inhibidor de leucemia). IL-1 α / β . (interleucina).	Fibroblastos Monocitos Macrófagos Neutrófilos Células endoteliales	Pro inflamatoria Induce neutrófilos y macrófagos activan osteoclastos, promotores de células B y T	21 ^a 9q25-27 ^b
IL-1R tipo I/II (receptor IL-1)	neutrófilos fibroblastos leucocitos células t	Estimulan proliferación y diferenciación de células T, induce la proliferación y secreción de Ig por células B	11 17 ^a 26-27
IL-3	Células T en bazo	Estimula la hematopoyesis, diferenciación y proliferación.	13 ^a 13-14 ^a Xq23 ^b
Cd40L ^a (ligando CD40)	linfocitos	Actividad de neutrófilos	
FGFR (receptor)	Células epiteliales del oviducto		
INF- γ	Células T Células NK	Estimula macrófagos, aumenta la expresión de superficie del MHC clase I y II en varios tipos de células, estimula citotoxicidad.	5q24.1
TNF- α ^{a,c} / β (factor de necrosis tumoral)	Macrófagos Monocitos Células T y B. Neutrófilos, células endoteliales.	Mediadores de la inflamación y crecimiento	23 ^a
IL-8R (receptor)	Células T y B Monocitos.	Inhibición y proliferación de clon Th, expresión y producción de INF	2 1
IL-12 IL-15	Linfocitos, macrófagos. Células B	Agente anabólico en células musculares	

Cuadro. 12 (24)

LITERATURA CITADA.

1. Abbas, K. A., Lichtman, H. A. and Pober, S. J. Inmunología Celular y Molecular tercera edición . Edit Mc Graw- Hill Interamericana 2001.
2. Adams, L. G., and Templeton, J. W. Genetic resistance to bacterial diseases of animals. *Revue Scientifique et Technique de L'Office International des Epizootes* 17: 200-219 (1998)
3. Aitken, R., Hoseeini, A. and MacDuff, R. Structure and diversification of the bovine immunoglobulin repertoire. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72: 21-29 (1999)
4. Amills, M., Ramiya, V., Norimine, J. and Lewin, H.A. The Major Histocompatibility complex of ruminants. *Revue Scientifique et Technique de L' Office International des Epizootes* 17: 108-120 (1998)
5. Anderson, B. H., Watson, D. L. and Colditz, I. G. The Effect of Dexamethasone on Some Immunological Parameters in Cattle. *Veterinary Research Communications*, 23: 399-413 (1999)
6. Anderson, L. and Davies, C. J. The Major Histocompatibility Complex. In cell-mediated Immunity in Ruminants. *CRC press Inc* 3: 37-58 (1994)
7. Babiuk, L. A., S. Van Drunen Littel- van den Hurk., Tikoo, S. K. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Microbiology* 53: 31-42 (1996)
8. Bastida-Corcuera, F. D., Butler, J. E., Yahiro, S. L., Corbeil, B. Differential complement activation by bovine IgG2 allotypes *Veterinary Immunology and Immunopathology* 71: 115-123 (1999)

9. Brown, W. C., Rice-Ficht, A. C., Estes, D. M. Bovine type 1 and type 2 responses *Veterinary Immunology and Immunopathology* 63: 45-55 (1998)
10. Bush, L.J. and Staley, T.E: Absorption of colostral immunoglobulin in newborn calves. *Journal of dairy science*. 63: 4 (1998)
11. Cantó, A. J., Figueroa, M. J. V., Ramos, A. J. A., Álvarez, M. J. A., Mosqueda, G. J. J., y Vega, C. A. Evaluación de la patogenicidad y capacidad protectora de un inmunógeno fresco combinado de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*. *Veterinaria México* 30: 215-219 (1999)
12. Collins, R., Oldham, G. Effect of recombinant bovine IL-1 and IL-2 on B- cell proliferation and differentiation. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 44:145-150 (1995)
13. Covert, J. Splitter, G. Detection of cytokine transcriptional profiles from bovine peripheral blood mononuclear cells and CD4- lymphocytes by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Veterinary immunology and Immunopathology*. 49:39-50 (1995)
14. Cherly, A., London, A. K., Abbas, A. K. Helper Tcell subsets: Heterogeneity, functions and development. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 63: 37-44 (1998)
15. Dyce, K. M., D.V.M., Sack, W. O., D.V.M., Wensing, C.J.G. Anatomía Veterinaria segunda Edición Mc Graw- Hill- Interamericana (1996)
16. Goddeeris, Bruno M ,L., Morrison, Ivan. Cell-Mediated Immunity In Ruminants. *CRC Press* (1994)

17. Hansen, P.J. Interactions Between The Immune System and The Bovine Conceptus. *Theriogenology* 47: 121-130 (1997)
18. Howard, C. J., Brooke, G.P., Werling, D., Sopp, P., Hope, J. C., Parsons, K. R. and Collins, R.A. Dendritic cells in cattle: phenotype and function. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 72: 119-124 (1999)
19. Lan, H. C., Reddy, P. G., Chambers, M. A., Walker, G., Srivastava, K. K. and Ferguson, J. A. Effect of stress on interleukin-2 receptor expression by bovine mononuclear leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 49: 241-249 (1995)
20. Mc Donald, V; Bancroft, G. J., Smith, N. C., Fell, A., Good, M. F., Morrison, W.I., McKeever, D. J., Sternberg, J. M., Liew, F. Y. and Cox, F. E. G. Immunology of intracellular parasitism, *Chemical- Immunology* 70:204 (1998)
21. McKeever, D. J. Induction of Tcell Mediated Immune Responses in Ruminants. *CRC press Inc.* 6:93-108 (1994)
22. Miner, G., Dominguez, E., Randrup, M., Sánchez, L. and Calvo, M. Effect of heat treatment on anti-rotavirus activity of bovine colostrum. *Journal of Dairy Research* 66: 131-137 (1999)
23. Olguin, A. y Aguilera, C. I. Vacunación en el ganado bovino. *Memorias Avance en Farmacología Aplicada en la clínica bovina. Colegio de Medicos Veterinarios Zootecnistas del D.F. A. C. Octubre 1997 México D.F.*
24. Pastored, P., Gonaertis, A., Griebel, P., Bazin H. Immunology of Cattle *Handbook of Vertebrate Immunology XIII:440-480.*

25. Pijoan, A. P. Niveles de Inmunoglobinas Calostrales en becerras lecheras de la región de Tijuana y su efecto en la sobrevivencia y desarrollo de la cría durante la lactancia. *Veterinaria México* 28 (3) 203-208 (1997)
26. Quiroz, R. G. F., Bouda, J., Medina, C. M., Núñez, O. L., Yabuta, O. K. Impacto de la administración y la calidad del calostro sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en becerros. *Veterinaria México* 29:161-165 (1998)
27. Roth, J. A. Neutrophils and Killer Cells. In cell-mediated Immunity in Ruminants (eds Goddeeris, B. M., Morrison, W.I. *CRC press Inc* 8:127-142 (1994)
28. Sheldrake, R. F., Husband, A. J., Watson, D. L., Cripps, A. W. *Selective* transport of serum- derived IgA into mucosal secretions. *Journal immunology*. 132:363-368 (1998)
29. Shrikhande, G. B., and Sarode, D. B. Haemato Biochemical Levels In Cows of Different Age Groups. *Indian Veterinary Journal*. 76: 26-28 (1999)
30. Sordillo, L. M., Shafer- weaver, K., and De Rosa, D. Immunology of the Mammary Gland. *Journal of Dairy Science* 80:1851-1865 (1997)
31. Tizar, I.R. Inmunología Veterinaria Quinta Edición . Edit Mc Graw- Hill Interamericana S.A. de C.V. México D.F.

**ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA**

32. Wilson, E., Kemal, M., A. and Mark A. J. A Circulating Bovine γ/δ T cell subset, Which Is Found in Large Numbers in The Spleen Accumulates Inefficiently in an Artificial Site of Inflammation: Correlation with Lack of Expression of E-Selectin Ligands and L- Selectin. *the journal of immunology* 162: 4914-4919 (1999)

33. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos . Manual de actualización técnica para la aprobación del Médico Veterinario como unidades de verificación en Tuberculosis y Brucelosis, México D.F. SAGAR 1996