



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**“CARACTERIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR NEONATAL
Fc (FcRn) EN INTESTINO DELGADO DE ALPACAS PERINATAS
(*Vicugna pacos*)”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR

Bach. Claudio Augusto San Martin Suarez

ASESOR

M.V. José Luis Quichiz

Lima, Perú

2021

Dedicatoria

A mis padres por todo el apoyo brindado durante todo este proceso

Agradecimientos

A mi asesor, M.V. Hugo castillo, por haberme dado la oportunidad de poder realizar esta investigación y por todo el apoyo brindado durante todo el proceso de esta investigación.

A la representante del laboratorio Histostain, Lic. Carolina San Miguel, por su ayuda en la realización de los procedimientos inmunohistoquímicos.

RESUMEN

El objetivo fue identificar los eventos de la expresión del receptor Fc neonatal (FcRn) en el intestino delgado de alpacas perinatas (*Vicugna pacos*). Se analizó una muestra conformada por 8 alpacas recién nacidas (rango entre 0 a 3 días), en las cuales, se extrajeron un total de 24 biopsias (3 biopsias por cada alpaca, y según las regiones del duodeno, yeyuno e íleon), estas alpacas provinieron del departamento de Huancavelica. La presencia del FcRn se demostró mediante la técnica de inmunohistoquímica. Como principales resultados se tuvo que las muestras presentaron intensidades similares según la zona del intestino evaluada, para la gran mayoría de casos entre niveles intermedio (2+) a intenso (3+), y este receptor estuvo presente solo en las células del epitelio de las vellosidades intestinales y en las del epitelio muscular. La conclusión fue que el FcRn en intestino delgado de alpacas perinatas (*Vicugna pacos*) estuvo presente en los enterocitos y células de las criptas de la mucosa, así como también en las células musculares. La homogeneidad en la expresión de niveles intermedio e intenso del FcRn en casi todos los casos evaluados, incluyendo los casos que no consumieron calostro, indicaría que la consolidación de los niveles de esta proteína ocurriría durante el período de gestación.

Palabras clave: Receptor neonatal Fc; Alpacas perinatas; Intestino delgado.

ABSTRACT

The objective was to identify the events of the expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the small intestine of perinata alpacas (*Vicugna pacos*). A sample made up of 8 newborn alpacas (range between 0 to 3 days) was analyzed, in which a total of 24 biopsies were extracted (3 biopsies for each alpaca, and according to the regions of the duodenum, jejunum and ileum), these alpacas came from the department of Huancavelica. The presence of the FcRn was demonstrated by the immunohistochemical technique. The main results were that the samples presented similar intensities according to the zone of the intestine sent, for the vast majority of cases between intermediate levels (2+) to intense (3+), and this receptor was present only in the epithelial cells of the intestinal villi and those of the muscular epithelium. The conclusion was that FcRn in the small intestine of perinata alpacas (*Vicugna pacos*) was present in the enterocytes and crypt cells of the mucosa, as well as in the muscle cells. The homogeneity in the expression of intermediate and intense levels of FcRn in almost all the cases evaluated, including the cases that did not consume colostrum, would indicate that the consolidation of the levels of this protein occurs during the gestation period.

Keywords: Neonatal Fc receptor; Perinata alpacas; Small intestine

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	1
2.1. Antecedentes.....	1
2.2. Bases teóricas.....	3
2.2.1. La alpaca (<i>Vicugna pacos</i>).....	3
2.2.2. Intestino delgado en alpacas	7
2.2.3. Expresión de FcRn	8
2.2.3.1. Generalidades	8
2.2.4. Inmunohistoquímica	11
2.3. Definición de términos básicos.....	13
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	14
3.1. Hipótesis.....	14
3.2. Variable.....	14
IV. METODOLOGÍA.....	15
4.1. Diseño metodológico.....	15
4.2. Diseño muestral	15
4.3. Técnicas de recolección de datos	15
4.3.1. Selección de los animales.....	15
4.3.2. Protocolo de sacrificio	16

4.3.3. Necropsia.....	16
4.3.4. Toma de muestra	17
4.3.5. Procesamiento de la muestra	17
4.3.6. Inmunohistoquímica	18
4.4. Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información.....	19
4.5. Aspectos Éticos	19
V. RESULTADOS	20
V. DISCUSIÓN.....	38
VI. CONCLUSIONES.....	41
VII. RECOMENDACIONES	42
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
X. ANEXOS.....	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el duodeno	20
Tabla 2. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el yeyuno.....	26
Tabla 3. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el íleon.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno durante el mismo día del parto	21
Figura 2. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a un día posterior al parto	21
Figura 3. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a dos días posteriores al parto	23
Figura 4. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a tres días posteriores al parto	24
Figura 5. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno durante el mismo día del parto	27
Figura 6. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a un día posterior al parto	27
Figura 7. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a dos días posteriores al parto	29
Figura 8. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a tres días posteriores al parto	30
Figura 9. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon durante el mismo día del parto	33
Figura 10. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a un día posterior al parto	33
Figura 11. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a dos días posteriores al parto	35
Figura 12. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a tres días posteriores al parto	37

II. MARCO TEÓRICO

I. INTRODUCCIÓN

El receptor neonatal Fc (FcRn) es una glicoproteína integral de membrana en forma de heterodímero, parecido al MCH (complejo mayor de histocompatibilidad) de tipo o clase I, cadenas α y β 2-microglobulina (1). Este receptor fue descrito originalmente en roedores como el transportador de inmunoglobulinas G (IgG) desde la madre hacia el recién nacido a través del intestino neonatal (2). Posteriormente, se halló también en otros mamíferos, y se identificó que en general, está presente en las células epiteliales, que entregan IgG a través de estas barreras, así como también en las células endoteliales, las cuales son responsables del mantenimiento de los niveles séricos de IgG (3).

Este receptor en las mucosas presentaría la función de transportar inmunoglobulinas, las cuales, responden y protegen contra los microbios que ingresan al cuerpo a través de las mucosas superficiales de las vías gastrointestinal, genitourinaria y tractos respiratorios (4). En el ganado, la IgA es la principal inmunoglobulina en saliva, lágrimas y secreciones nasales, mientras que la IgG predomina en el calostro, secreciones de la leche, del tracto gastrointestinal y genitourinario (5–8).

La inmunidad pasiva en rumiantes implica la captación de inmunoglobulinas del calostro, en donde hay una alta selectividad en estas del plasma materno a través de la barrera mamaria hacia el calostro, y solo la inmunoglobulina G1 (IgG1) se transfiere en grandes cantidades (9). Posterior al consumo del calostro, las inmunoglobulinas se transportan a hacia su sangre mediante la barrera intestinal. Este pasaje intestinal parece ser inespecífico y, posteriormente, una gran proporción de la IgG absorbida es reciclada hacia el lumen intestinal (10,11). Esto podría contribuir a la protección del sistema digestivo contra infecciones tempranas (8,12).

El predominio de IgG1 sobre IgG2 en mucosas apoya el concepto de que la IgG1 es crucial para la inmunidad en rumiantes, lo cual también es apoyado por el hecho de que, la IgG1 bovina, pero no la IgG2, es tan resistente a la proteólisis como la IgA (13). El transporte transepitelial de la IgA en las secreciones de las mucosas es llevado a cabo por el receptor polimérica de inmunoglobulinas, que también ha sido identificado en ganado (14,15). Sin embargo, el mecanismo por el cual, la IgG cruza las células epiteliales para proporcionar defensa en superficies de las mucosas, no se tiene muy claro aún (se sospecha que es por el FcRn).

Todo esto se ha reportado en diversos tipos de rumiantes, pero existe una escasa evidencia científica en camélidos, con especial mención en la alpaca, y al ser el Perú, una de las principales reservas de estos animales, además de que la crianza tiene como prioridad el consumo de carne y fibra para los diversos pueblos, es importante profundizar en la distribución de este receptor, de tal forma que esto permita un mejor entendimiento de la inmunidad de las alpacas, y, por ende, establecer también medidas preventivas y orientadas hacia la protección del recién nacido, con el fin de mejorar la supervivencia de este.

Por los motivos expuestos, se tuvo como objetivo el de identificar los eventos de la expresión del receptor Fc neonatal (FcRn) en intestino delgado de alpacas perinatas (*Vicugna pacos*). Para ello, se analizó una muestra de 8 alpacas recién nacidas (rango entre 0 a 3 días), en las cuales, se extrajeron un total de 24 biopsias (3 biopsias por cada alpaca, y según las tres regiones del intestino). Los diversos días de evaluación se determinaron con el fin de establecer diferencias en la caracterización del FcRn.

Posteriormente, se demostró la presencia del FcRn mediante la técnica de la inmunohistoquímica, la cual, implica la aplicación de anticuerpos específicos para la detección de epítopes del antígeno al cual va a dirigido. Finalmente, el presente estudio encontró que esta proteína estuvo presente en las células las vellosidades intestinales y en las células del epitelio muscular, y con intensidades muy similares.

2.1. Antecedentes

Tolopka, J. y col. (16) realizaron una investigación en el año 2017 cuyo objetivo fue “Expresar la región soluble del receptor neonatal humano para la porción Fc en su forma heterodimérica, empleando células de mamífero, a fin de contar con una herramienta para predecir la vida media de anticuerpos terapéuticos”. Estudio de nivel básico en el que realizaron dos procedimientos: Clonaron la región codificante para los dominios extracelulares de la cadena α (α sol) y de la β 2m. Luego, obtuvieron líneas estables CHO-K1 y HEK293 por cotransfección con las moléculas de interés y evaluación de la productividad mediante Western Blot (WB). Como principales resultados, se detectó la subunidad β 2m mediante el WB en el sobrenadante concentrado de la línea celular CHO-K1 α sol/ β 2m, generada con el agente transfectante y la proporción 1:1 de ADN. Además, no se pudo detectar la subunidad α sol, ni tampoco se observó la expresión de la β 2m en la línea HEK293 α sol/ β 2m. Finalmente, se preparó un extracto celular mediante ciclos de congelación y descongelación, y se evaluó mediante WB con el fin de detectar la acumulación de dicha proteína en la vía secretoria, evidenciando la β 2m en el interior de las células. Se concluyó que no se logró obtener el FcRn como heterodímero debido a la falta de expresión de la α sol.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. La alpaca (*Vicugna pacos*)

Este es un herbívoro, especie domesticada y propia de Sudamérica desde hace más 6000 años de sus ancestros silvestres, así como también sus antecesores, como la vicuña (*Vicugna vicugna*) y el guanaco (*Lama guanicoe*) (17,18). Es criada en las zonas altoandinas de Argentina, Chile, Perú y Bolivia. Además, desde el punto de vista fisiológico, es un animal apto para vivir a una gran altura y alimentarse con forrajes de calidad heterogéneo (19).

Entre la composición de este tipo de dieta se encuentran plantas xerofíticas con hojas resinosas, como los arbustos tolares, los cuales se pueden ubicar en los pastizales de las zonas áridas y semiáridas (20). Con respecto a los recursos que brindan, estos están orientados principalmente en la obtención de energía para el transporte, así como también carne y fibra, entre otros (21). Por ejemplo, esta carne es destinada al autoconsumo y venta, siendo atractiva por sus aspectos nutritivos, ya que presenta un bajo porcentaje de grasa (colesterol) y alto de proteínas (22).

El aumento del interés sobre la crianza de estos animales es debido a la suavidad y finura de su vellón, el cual, es importante en la industria textil y de relevancia económica para los pobladores de zonas rurales (23–25). Esto es diferente, por ejemplo, para otras especies cercanas como las llamas, ya que estas son criadas de preferencia, para consumo de carne y como animales de carga (26,27).

Entonces, los aspectos más relevantes son la carne y el vellón, pero con respecto a la leche que producen las alpacas, existen muy pocos estudios centrados en detallar su composición, dentro de los cuales, Ormachea demostró que esta es muy similar a la de la llama, y que sus principales componentes no se ven afectados por el período de lactancia, aunque esto podría verse influenciado por la zona agroecológica (18). Este poco interés en la leche de esta especie es muy diferente comparado con otros camélidos, como la del camello, ya que es considerada como el “oro blanco del desierto”, debido a su similitud con la leche materna en su composición y se diferencia porque contiene un alto contenido de minerales y de vitamina C, y bajo niveles de colesterol y azúcar (18).

Inclusive, esta leche ha sido reconocida porque potencia los tratamientos contra diversas enfermedades como la ictericia, asma, leishmaniasis, entre otros (28,29). Asimismo, se

ha demostrado que esta presenta proteínas protectoras parecidas al de la insulina, y, por ende, son utilizadas para tratar la diabetes (30–32), además de presentar propiedades antitumorales (33). Adicionalmente, se ha reportado propiedades antivirales, antifúngicas, antioxidantes y antibacterianos (34).

Diversas referencias resaltan e incentivan el poder conocer más sobre la carne, el vellón, pero sobre de la leche, ya que tampoco es una costumbre el ordeñar camélidos en Sudamérica, con el motivo de comprender mejor cuáles son los nutrientes necesarios para las crías, las cuales dependen de esta, la época del año, y la edad reproductiva (18,35).

2.2.1.1. Proceso de inmunización de las alpacas: Desde el período de lactancia, su aumento progresivo e importancia

Las alpacas poseen una placenta de tipo epiteliocorial difusa, la cual, impide el transporte de inmunoglobulinas de la madre hacia el feto durante la gestación, razón por la cual, las crías nacen prácticamente agammaglobulinémicas, y dependen del calostro para la transferencia pasiva de anticuerpos maternos (36).

La concentración de IgG en suero sanguíneo de las crías, luego de la ingesta de calostro, aumenta hasta niveles que proporcionan resistencia contra agentes infecciosos. La falla de la transferencia pasiva (FTP) se define como un nivel de inmunoglobulina G sérica inferior a 900 mg/dl a las 48 horas de vida. Los primeros estudios realizados en el Perú indican que el 9% (11/82) de crías en Puno presentaban FTP, asociando esta condición con susceptibilidad a infecciones neonatales. También se ha reportado que existe una relación de 15% de alpacas y 20% de llamas americanas con FTP con susceptibilidades a procesos infecciosos. Sin embargo, otros estudios descartan esta posible asociación; ya que también se ha reportado que, en 150 llamas y 300 crías de alpacas, se

encontraron solamente seis crías con concentraciones séricas de IgG menores a 1000 mg/dl, así como que como la detección de que una sola cría presentaba FTP entre 77 animales evaluados (36).

Esto es diferente para otras especies de rumiantes, ya que las crías de bovinos son capaces de producir IgG endógeno durante las 3 primeras semanas de vida, pero a niveles poco significativos. Además, también se ha evidenciado que los fetos de bovinos tienen una limitada capacidad de producir IgG. Asimismo, considerando que los porcinos también comparten el mismo tipo de placenta que los rumiantes, bajo condiciones normales, nacen libres de inmunoglobulinas, con ningún tipo de actividad de anticuerpos, pero estos fetos son capaces de montar una reacción inmune sí son expuestos a estímulos antigénicos en el útero (37).

Por otro lado, la adquisición y absorción de adecuados niveles de inmunoglobulina del calostro es esencial para la salud del neonato. Máximos niveles de IgG sérica en neonatos lactantes es alcanzado a las 06 horas, bajando luego estos valores de 24,52 a 8,8 mg/mL, considerándose concentraciones sobre los 10 mg/mL como indicadores de transferencia pasiva exitosa. Las concentraciones de IgG declinan después de 2 a 5 semanas y hay un marcado incremento entre los 1 y 2 meses, hecho que indica que el sistema inmune del neonato ha comenzado a madurar (37).

Con respecto a otras especies, las concentraciones de IgG en el calostro varían, en el de camellos, bovinos y caprinos son de 116 000, 9. 800 y 9 600 mg/dL respectivamente. Neonatos alimentados con calostro de vaca y cabra se mostraron saludables después de la administración de este, siendo la eficiencia aparente de absorción de 35,1% para calostro de camello, 32,1% para calostro de bovino y 31,3% para calostro de cabra. Por ese motivo, la administración de calostro bovino y caprino puede ser considerada en camélidos neonatos cuando no es posible conseguir calostro de camélido (37).

2.2.2. Intestino delgado en alpacas

Este no presenta variaciones importantes con respecto a otros rumiantes. Entre algunas de sus características se encuentra que este posee una longitud de 13.4 metros aproximadamente, un diámetro promedio de 2 a 3 centímetros, un origen en el píloro y anatómicamente está conformado por las tres zonas convencionales (duodeno, yeyuno e íleon) (38).

La primera porción se denomina duodeno, el cual, comienza en el píloro y en su porción inicial, presenta una dilatación conocida como la ampolla duodenal. Su curso es por el lado derecho de la primera vértebra cervical hacia la cavidad abdominal (zona dorsal), pasando detrás de la arteria mesentérica craneal desde el lado derecho al izquierdo (39). La segunda porción es el yeyuno, el cual, es la más extensa, llegando a alcanzar en alpacas una longitud de 12,4 m aproximadamente. Esta forma pliegues o asas en forma de U a lo largo de su trayecto, y en la parte caudal derecha del abdomen para la raíz del mesenterio. Finalmente, la última porción es el íleon, esta se dirige hacia la parte media y dorsal hasta el orificio ileocecal, extendiéndose desde el borde libre del pliegue ileocecal, con el fin de comunicarse con el colon (39).

A nivel histológico, se compone de un epitelio cilíndrico simple que presenta vellosidades y criptas intestinales. Las vellosidades, los cuales son proyecciones digitiformes de la capa de la mucosa, es la característica más relevante, y según la actividad fisiológica intestinal y la especie, pueden variar en su altura. Por ejemplo, cuánto más rápido es esta digestión, la altura es mayor; las vellosidades de los rumiantes tienen una menor altura en comparación con los carnívoros. Por otro lado, los equinos y cerdos presentan una altura intermedia, teniendo múltiples criptas proliferativas alrededor, los cuales, se abren a nivel basal como invaginaciones simples y tubulares que se ramifican, y que penetran la capa de la mucosa hasta la muscular de esta (38).

Adicionalmente, existen entre 1 a 6 células progenitoras por cada cripta, ubicadas en la base de esta, y que originan a las diferentes células que se movilizan hacia la región apical de las vellosidades, como las células caliciformes y enteroendocrinas, así como también a los enterocitos. Por otro lado, las células de Paneth se quedan en la base (38).

2.2.3. Expresión de FcRn

2.2.3.1. Generalidades

Es una proteína cuya función es el transporte de las inmunoglobulinas de tipo IgG en varias especies de animales, como ratones y ratas, incluyendo humanos. Su composición es a base de un heterodímero de una glicoproteína de membrana integral, de una cadena α y una β 2-microglobulina (β 2m), similar MHC tipo I (40).

Este receptor fue descrito originalmente en roedores como el transportador de inmunoglobulinas G (IgG) desde la madre hacia el recién nacido a través del intestino neonatal (2). Su presencia también se ha reportado en otros mamíferos, y se identificó que en general, está presente en las células epiteliales, que entregan IgG a través de estas barreras, así como también en las células endoteliales, las cuales son responsables del mantenimiento de los niveles séricos de IgG (3).

Posteriormente, se describió que el transporte de gammaglobulinas hacia los recién nacidos, probablemente, ocurra antes o después del nacimiento. En este proceso es en donde se estima la participación de la porción Fc de la gammaglobulina, la cual, interactúa con algún receptor celular específico (41).

2.2.3.2. Localización

En general, este receptor se ubica en las células epiteliales de diversos tejidos, y la glándula mamaria no es la excepción. Habiéndose reportado en este tipo de tejido en ratones, y otras especies, como porcinos, humanos, vacas, ovejas, entre otros. No obstante, todavía existe desconocimiento parcial sobre el transporte de IgG en estos (9).

Durante el período de gestación, la expresión del FcRn se ha reportado en las células acinares. Posterior a ello, esta presencia decae. Contrariamente, en otros tejidos como los provenientes del sistema respiratorio inferior, intestino delgado, y células endoteliales, se ha reportado que los niveles no disminuyen significativamente (42).

Además, se ha propuesto que el FcRn transporta IgG durante la producción del calostro, debido al cambio de la expresión antes y después del parto, encontrándose, por ejemplo, en el duodeno de cordero, que la expresión FcRn en las células de las criptas estaría relacionada con la secreción de IgG1. Entonces, es sugerido que, en las células epiteliales de los rumiantes, este FcRn transporta, específicamente, IgG1 hacia el lumen (43).

2.2.3.3 Funciones principales

La presencia del FcRn en diferentes epitelios (riñón, pulmón, placenta e intestino), in vitro, ha demostrado que este receptor permite el paso de IgG en dos direcciones (44). La absorción de esta Ig por el FcRn requiere un pH ácido, el cual, ocurre dentro de la luz intestinal, especialmente en los endosomas acidificados. Por ejemplo, en la sección proximal del intestino de una rata recién nacida, el pH está entre 6,0-6,5; esto permite la unión del FcRn con las IgG, su absorción apical, y la posterior endocitosis y paso hacia la circulación. Cuando este pH no llega a ser el adecuado, se sospecha que la IgG se

absorbe pinocitosis, el cual después de la acidificación del endosoma, se une al FcRn (por reciclaje o transcitosis) (45).

Además, el FcRn en el pulmón influye cualitativa y cuantitativamente en la secreción de IgG, ya que en ratones deficientes del FcRn, se demostró niveles reducidos de IgG en suero, que apoya más la teoría sobre que la FcRn prolonga la vida media de esta inmunoglobulina. Esta reducción en los isotipos IgG fue igualmente observado en el parénquima pulmonar, lo que implica que la difusión de la IgG depende de la circulación sistémica y de la expresión de esta proteína (46). Esto se observó también en lavado bronqueoalveolar de estos ratones, en los cuales, a diferencia de IgA e IgM, la IgG luminal dependía fuertemente de la expresión del FcRn, debido a que las concentraciones fueron de 10 a 100 veces menores. En contraste, en ratones normales, la IgG2b e IgG3 fueron menos frecuentes en suero que en la mucosa, lo cual demostraría que la relación de isotipo depende de la expresión de esta proteína, ya que estos niveles en el ratón con deficiencia de este receptor fueron semejantes entre el suero y tejidos (46).

Otra función notable del FcRn es la administración de antígenos, ya que se ha demostrado que el FcRn está implicado en la transcitosis de IgG sérica monomérica desde el lado basolateral apical del epitelio, mediante el cual, los complejos inmunes formados en la luz son administrados por el FcRn hacia la lámina propia para el procesamiento de antígenos, y a la vez desencadena respuestas inmunes. Por ende, el FcRn en el epitelio, probablemente puede detectar infecciones epiteliales o lumbinales, y transmitir información sobre estas infecciones a nivel local y sistémico del aparato inmune (47).

2.2.3.4. Expresión del receptor neonatal en mucosa intestinal

El paso de anticuerpos en rumiantes implica la captación de estas del calostro, en la cual, hay una alta selectividad en estas del plasma materno a través de la barrera mamaria hacia el calostro, y solo la inmunoglobulina G1 (IgG1) se transfiere en grandes cantidades (9). Tras el ingreso de este calostro, las inmunoglobulinas se transportan hacia la sangre mediante la barrera intestinal neonatal. Este pasaje intestinal parece ser inespecífico y, posteriormente, una gran proporción de la IgG absorbida es reciclada hacia el lumen intestinal (7,10). Esta acción protegería el sistema digestivo contra infecciones tempranas (8,12).

Por primera vez, este receptor se identificó en el borde en cepillo en la región proximal del intestino delgado, en roedores recién nacidos y se define como el receptor responsable del transporte de IgG hacia la sangre a partir del calostro (1,2). Aunque, en roedores, la expresión del FcRn en las células epiteliales intestinales se limita al período de lactancia (48), en humanos, este receptor se ha detectado tanto en el feto como en las células epiteliales intestinales adultas (49).

Adicionalmente, mientras que el FcRn transporta IgG unidireccionalmente en el torrente sanguíneo en roedores recién nacidos, el transporte de IgG específico de FcRn en el intestino adulto humano puede, basado en experimentos in vitro, ser bidireccional, lo que sugiere un sistema de secreción para la defensa del huésped en la superficie de la mucosa (50). Así como en los humanos, también se ha planteado un mecanismo similar de reabsorción en rumiantes, en la cual, hay una expresión positiva de este receptor en las células de la cripta, pero no en los enterocitos, lo que indicaría que este transporte de IgG se daría de forma inespecífica (9).

2.2.4. Inmunohistoquímica

Probablemente, este sea el método que más ha revolucionado la Anatomía Patológica en los últimos 50 años, debido a su impacto en el diagnóstico y pronóstico de los

pacientes. Esta técnica histológica consiste en la aplicación de anticuerpos dirigidos contra determinantes antigénicos o epítopes de los antígenos tisulares, y una posterior demostración de esta reacción mediante reactivos químicos que realizan el relevado de la zona bajo un color marrón (51).

Sin embargo, la gran mayoría de médicos asistentes todavía desconocen su alcance y limitaciones, ya que es muy frecuente leer en diversos artículos científicos sobre cómo se espera que este procedimiento resuelva los casos difíciles para interpretar resultados, además de que se pretende lograr milagros diagnósticos sobre muestras que no representan adecuadamente las lesiones específicas (52).

A pesar de que es un método con alta sensibilidad y especificidad, existe la probabilidad de tener también falsos positivos y negativos. Esto debido a varios factores, siendo el más simple e importante, la fijación tisular, pues su mala práctica disminuye significativamente la calidad del análisis de las biopsias, generando discordancias entre los diagnósticos por microscopia convencional y los obtenidos por la inmunohistoquímica. Otros factores que pueden influenciar inadecuadamente los resultados, son la selección de los anticuerpos, en los cuales, se debe enfatizar la verificación en la caducidad y forma de almacenamiento (52).

Para el diagnóstico de una determinada patología, es poco frecuente el uso de un solo marcador, en ese sentido, se utilizan varios para el diagnóstico, pero limitaciones de tipo económico usualmente impiden la cobertura total y adecuada. Esto amerita que su uso sea racional, dado los recursos que se disponen, y es el médico patólogo, el que decide luego del examen morfológico con técnicas convencionales, el conjunto selecto de marcadores o anticuerpos específicos (52).

La aplicación de la inmunohistoquímica generalmente se reserva para neoplasias potencialmente malignas, indiferenciadas o pobremente diferenciadas, con el fin de

precisar el origen celular, subclasificar tumores o indicar infiltración, cuando estas no sean evidentes con las técnicas histológicas rutinarias, como la hematoxilina-eosina. Además, también puede ser utilizada para la elección del tratamiento a seguir contra una neoplasia o para realizar seguimiento a los pacientes y determinar si este tratamiento está siendo útil o no (52).

2.3. Definición de términos básicos

- Receptor neonatal Fc: Receptor neonatal Fc: Proteína responsable de la transferencia pasiva de anticuerpos de tipo IgG y el reciclaje de este anticuerpo hacia la circulación, en diferentes especies animales (40).

- Mucosa intestinal: Capa más interna del intestino, formado por las vellosidades intestinales y las criptas, además de lámina propia y la muscular de esta (53).

- Submucosa intestinal: Es la capa que sirve como vía por la que atraviesan vasos sanguíneos y linfáticos, con el fin de drenar y aportar nutrientes hacia la mucosa y muscular externa (53).

- Capa muscular intestinal: Esta posee dos bandas musculares distintas en disposición perpendicular entre sí, la interna (forma circular), y la externa (longitudinalmente) (53).

- Marcador inmunohistoquímico: Hace referencia al antígeno tisular a detectar mediante la aplicación de un anticuerpo específico, y cuya revelado se observa mediante una reacción de color marrón (51).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

Al ser una investigación descriptiva, no se abordó la formulación de una hipótesis.

3.2. Variable

La variable evaluada fue: Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc.

- Definición conceptual: La caracterización de la expresión hace referencia a la distribución de la positividad de este receptor en algún tipo de epitelio; en el presente estudio fue en el intestinal.

- Definición operacional: Medida según la presencia de este receptor (antígeno), mediante la aplicación de anticuerpos específicos en la técnica de la inmunohistoquímica, y en diferentes regiones del intestino en alpacas perinatas.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño metodológico

El presente estudio fue de nivel básico, ya que se va a generar bases teóricas sobre el receptor neonatal Fc (FcRn) en alpacas perinatas (54). Además, fue de tipo descriptivo puesto que se analizó y se describieron las características de FcRn según los días posteriores al parto (54).

4.2. Diseño muestral

La población estuvo conformada por alpacas perinatas de estancias alpaqueras del Distrito de Pilpichaca, ubicado en la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica, desde febrero a marzo del 2018. La muestra del estudio estuvo representada por 8 alpacas recién nacidas (rango entre 0 a 3 días), en las cuales, se extrajeron un total de 24 biopsias (3 biopsias por cada alpaca, y según las regiones del duodeno, yeyuno e íleon). El muestreo fue no probabilístico por conveniencia.

4.3. Técnicas de recolección de datos

La técnica fue la observación, y el instrumento fue la ficha de recolección datos (anexo 1). No se abordó la validación dado que este instrumento no aplica para ello (55).

Los procedimientos realizados fueron los siguientes:

4.3.1. Selección de los animales

Se procedió a visitar las distintas estancias alpaqueras del distrito de Pilpichaca, con el fin de seleccionar los animales según la edad perinatal, que solo hayan consumido calostro y que se encuentren libres de patologías gastrointestinales y respiratorias. Por otro lado, las alpacas del día 0 debieron tener como requisito el no consumir calostro. La distribución fue la siguiente:

- Muestra N°1-2 (duodeno); 9-10 (yeyuno); 17-18 (íleon): Mismo día del parto (día 0).
- Muestra N°3-4 (duodeno); 11-12 (yeyuno); 19-20 (íleon): Día 1 posterior al parto.
- Muestra N°5-6 (duodeno); 13-14 (yeyuno); 21-22 (íleon): Día 2 posterior al parto.
- Muestra N°7-8 (duodeno); 15-16 (yeyuno); 23-24 (íleon): Día 3 posterior al parto.

4.3.2. Protocolo de sacrificio

Se sacrificaron aquellos animales que por accidente hayan sufrido lesiones irreversibles. Fue indispensable el uso de un método de eutanasia incruento, recomendándose el uso de eutanásicos comerciales o en su defecto una alta dosis de un anestésico disociativo, seguido de un método cruento (cuchillo en corazón o degüello) (56).

Este protocolo constó del uso de pentobarbital sódico al 6.5% a una dosis de 60 mg/kg de peso vivo intracardiaca a nivel del espacio intercostal entre la tercera y quinta costilla. Una vez administrado el fármaco, se procedió a evaluar el estado de conciencia del animal y constantes fisiológicas. Determinado el paro cardiorrespiratorio, se continuó con la realización de la necropsia y toma de muestra.

4.3.3. Necropsia

El animal fue llevado a una mesa de trabajo donde se procedió con la necropsia. Se realizó una observación general de la piel, fibra, orificios naturales, mucosas, condición

corporal, entre otros. Luego, se hizo una incisión sobre la línea media desde la apófisis xifoidea hasta la región púbica, para así obtener una mejor visión de las asas intestinales. Entonces, se abrió el abdomen y se hizo una observación completa de las vísceras abdominales para descartar alguna patología. Posteriormente, se procedió a reconocer la zona de duodeno, yeyuno e íleon para proceder a tomar las muestras de cada porción intestinal,

4.3.4. Toma de muestra

Una vez estas tres zonas del intestino, se realizaron varios cortes de 2 cm de longitud aproximadamente para estas regiones. Luego, estas secciones fueron lavadas en suero fisiológico estéril al 0.9% para retirar el contenido intestinal. Finalmente, estas muestras se colocaron en un envase estéril con formol al 10%, previamente rotulado con la identificación del animal y la fecha.

4.3.5. Procesamiento de la muestra

Todos los procedimientos posteriores se realizaron en los ambientes del laboratorio privado y especializado en procedimientos histológicos, Histostain. Posterior a la fijación de 24 horas, se realizó el procesamiento de inclusión en parafina, el cual consiste primero, en la deshidratación de la muestra por pases en alcoholes de menor a mayor concentración (4 alcoholes de 96° y 4 alcoholes absolutos por 1 hora cada uno). Luego, se realizó el aclaramiento por pasos sucesivos de sustituto de Xileno por 1 hora y media cada uno, terminando en 2 pasos de infiltración en parafina por 1 hora y media cada uno.

Después se realizó la formación del bloque de parafina en un centro de inclusión convencional, luego este bloque fue llevado al micrótopo de rotación tipo Minot para la elaboración de cortes histológicos de 4 μm (se utilizaron láminas positivadas). Estas láminas fueron secadas en una estufa a 60°C durante 30 minutos y posteriormente se realizó el análisis inmunohistoquímico propiamente.

4.3.6. Inmunohistoquímica

Se utilizó el kit de inmunohistoquímica de la marca Biomaxin, en el cual, el anticuerpo primario fue una IgG policlonal de conejo, elaborado para detectar al FcRn, y cuya secuencia peptídica fue homóloga en el 79% tanto para vacas, como para ovejas; especies que estarían en mayor relación de especie con la alpaca. Para todas las láminas, se utilizó como control positivo placenta humana, y el protocolo que se realizó fue el siguiente:

- Recuperación antigénica en baño maría a 92°C por 20 minutos. Posteriormente, las láminas se dejaron enfriar por 20 minutos a temperatura ambiente.

- Se aplicó la solución de lavado (Buffer fosfato) durante 5 minutos.

- Se añadieron unas gotas, hasta cubrir el tejido, de peróxido de hidrógeno al 3% por 5 minutos. Se aplicó la solución de lavado durante 5 minutos en 2 períodos sucesivos de igual tiempo cada uno.

- Se agregaron unas gotas, hasta cubrir el tejido, del anticuerpo primario por 35 minutos. Se aplicó la solución de lavado durante 5 minutos en 2 períodos sucesivos de igual tiempo cada uno.

- Se agregaron unas gotas, hasta cubrir el tejido, del polímero FLEX/HRP por 25 minutos. Se aplicó la solución de lavado durante 5 minutos en 2 períodos sucesivos de igual tiempo cada uno.

- Se añadieron unas gotas, hasta cubrir el tejido, del cromógeno por 5 minutos. Se aplicó la solución de lavado durante 5 minutos en 2 períodos sucesivos de igual tiempo cada uno.

- El contraste nuclear se realizó en hematoxilina de Harris durante 10 segundos, luego se colocaron las láminas en agua amoniaca durante 2 segundos, se lavó en agua corriente durante 1 minuto, y se deshidrató, aclaró y montó (Entellán) convencionalmente. En cada lámina histológica, se evaluaron diferentes campos al azar bajo los objetivos de 10X y 40X, y se determinó la frecuencia de expresión del marcador FcRn a partir de una reacción positiva de color marrón

4.4. Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información

Los resultados fueron registrados en un documento de Excel, para su posterior análisis e interpretación. Mediante tablas de contingencia, se evaluó la frecuencia de expresión del FcRn en las diferentes regiones del intestino delgado.

Adicionalmente, se realizó la semicuantificación del FcRn según la siguiente distribución: el valor 0 cuando la tinción es negativa (-); 1 cruz (+), cuando es débil; 2 cruces (++) , cuando es intermedio; y 3 cruces (+++), cuando es fuerte.

4.5. Aspectos Éticos

La presente investigación fue aprobada por el comité de ética de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas con número de resolución N°215-2019-FCA-UAP y por Decanato correspondiente (Anexo 2).

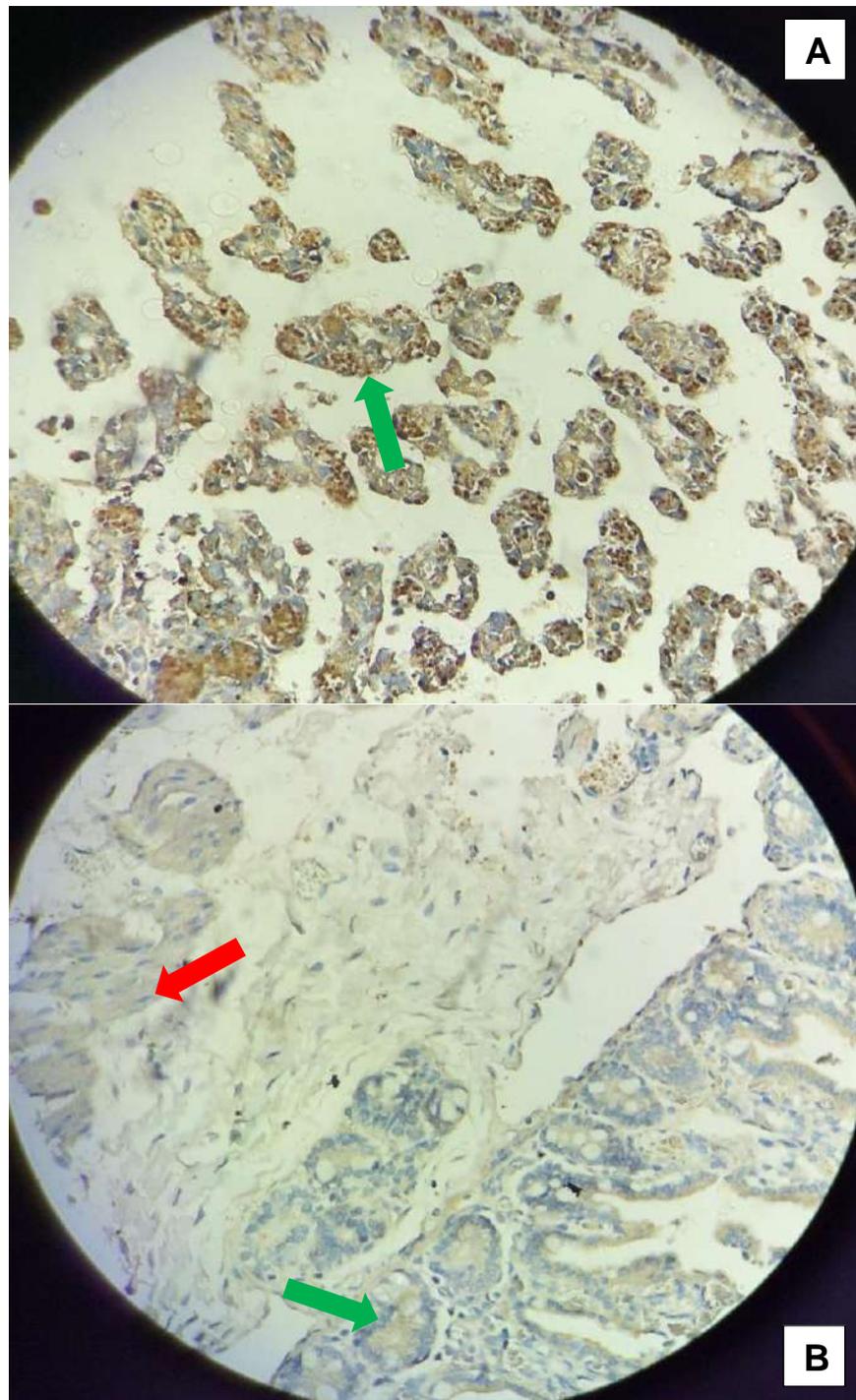
V. RESULTADOS

Tabla 1. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el duodeno

Muestra	Estadío	Mucosa		Submucosa	Muscular	
		Vellosidades intestinales	Lámina propia		Interna	Externa
1	Día 0	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
2	Día 0	1+	Negativo	Negativo	1+	1+
3	Día 1	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
4	Día 1	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
5	Día 2	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
6	Día 2	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
7	Día 3	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
8	Día 3	2+	Negativo	Negativo	2+	2+

Como se puede observar en la **tabla 1**, el FcRn estuvo presente solo en las células del epitelio de las vellosidades intestinales y del epitelio muscular. Además, estas intensidades variaron ligeramente, y con mayor frecuencia, se encontraron entre 2 y 3 cruces.

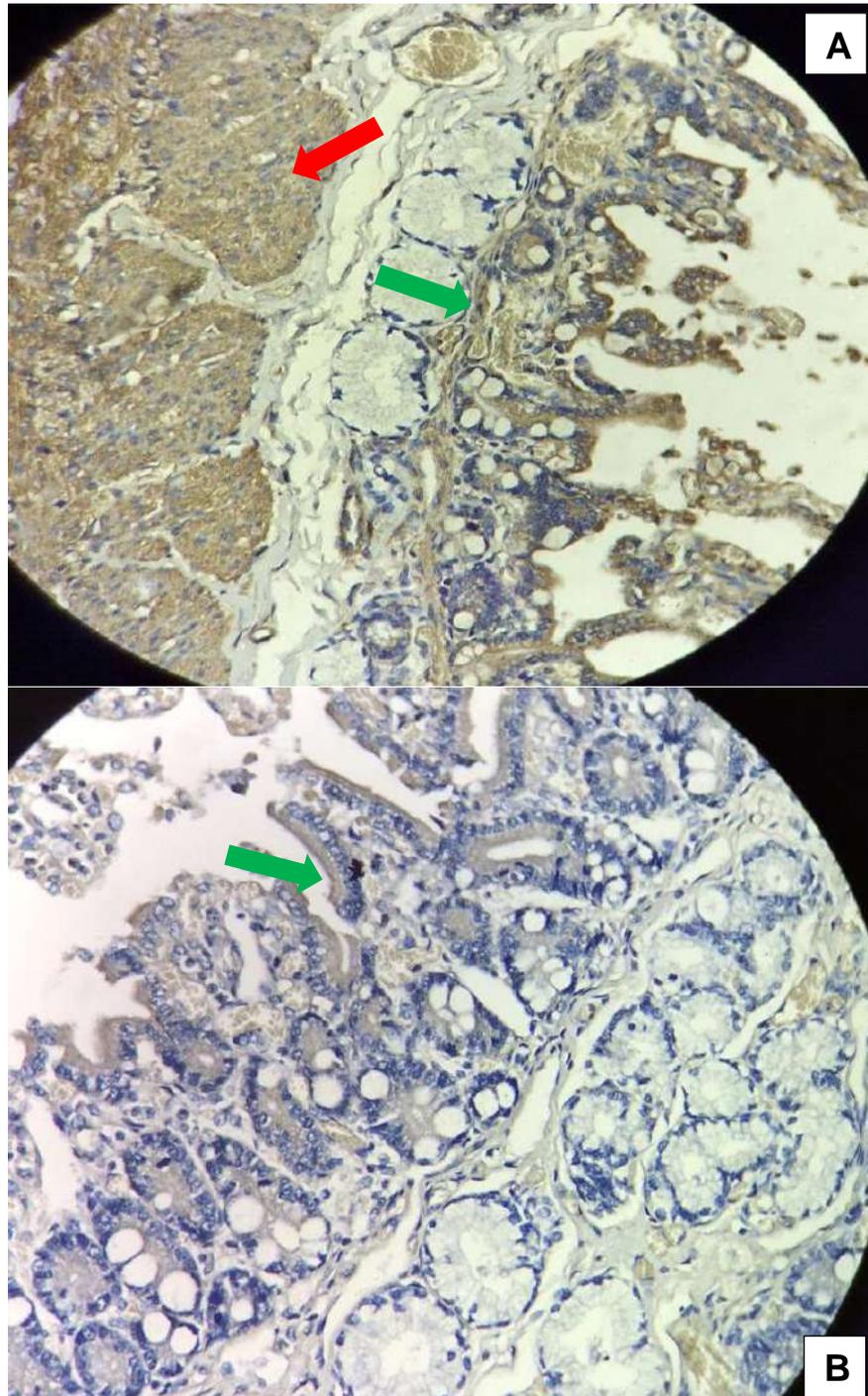
Figura 1. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno durante el mismo día del parto



Para las muestras del día 0 (durante el mismo día del parto), en la primera (**figura 1A**) se puede observar una reacción de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde); en la segunda (**figura 1B**) se puede observar una reacción

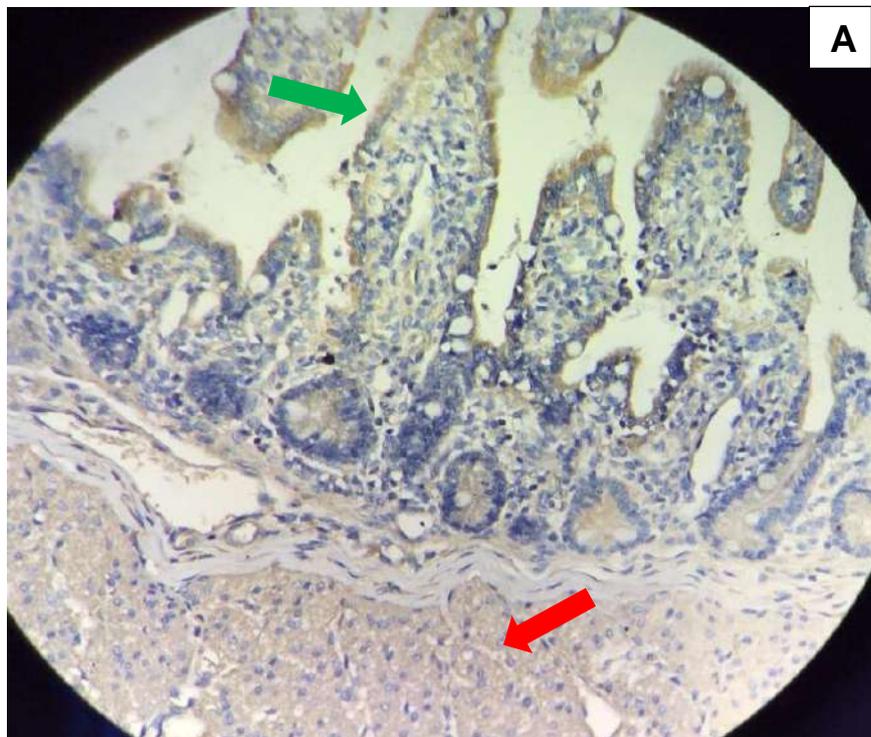
de 1+ también para las células de las vellosidades intestinales (flecha verde) y las del epitelio muscular (flecha roja).

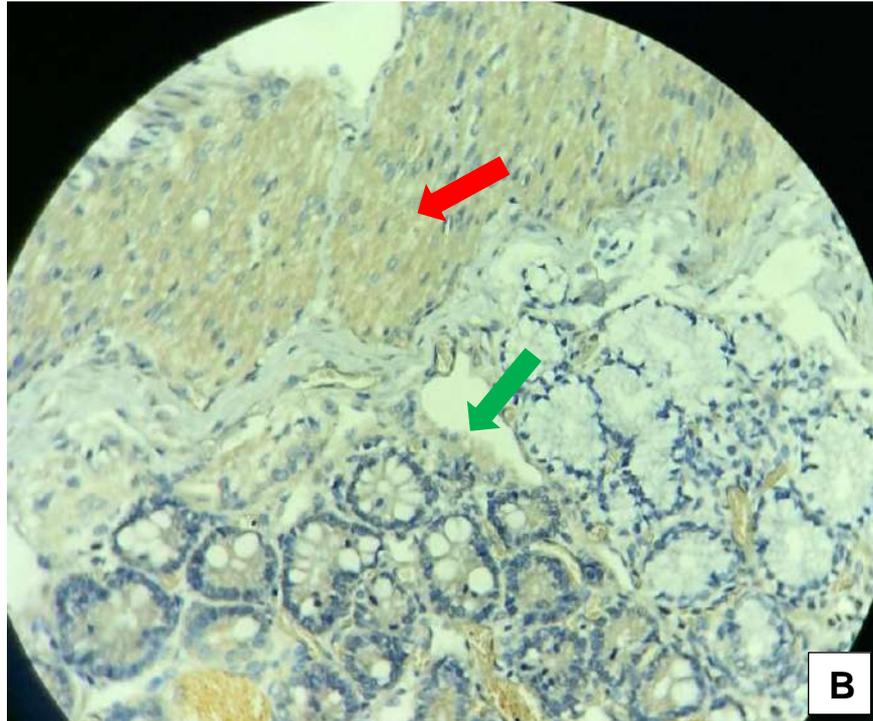
Figura 2. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a un día posterior al parto



Para las muestras del día posterior al parto, en la primera (**figura 2A**) se puede observar una reacción de 3+ tanto para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde), como para las del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura 2B**) se puede observar una reacción de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde).

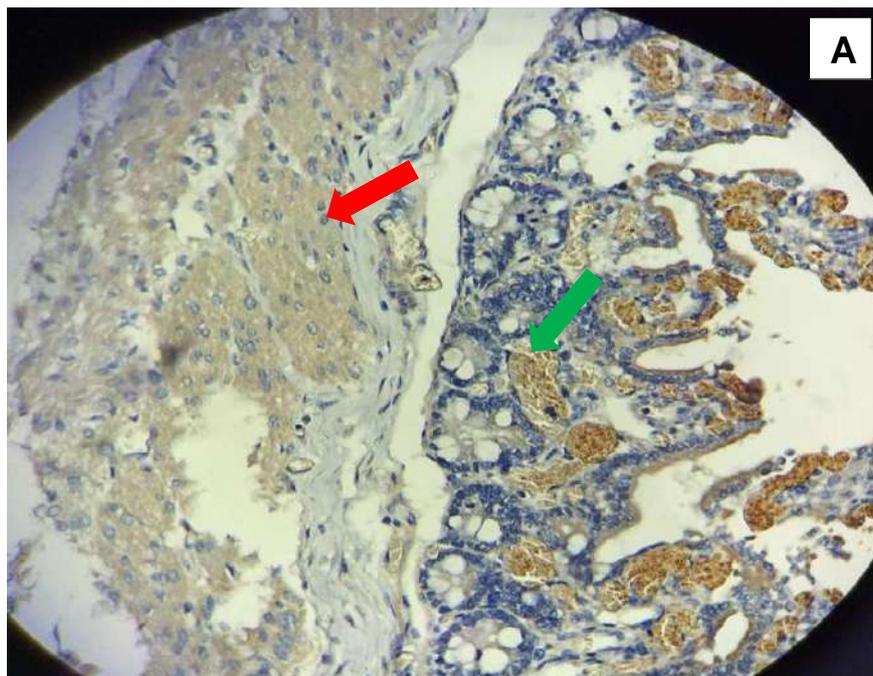
Figura 3. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a dos días posteriores al parto

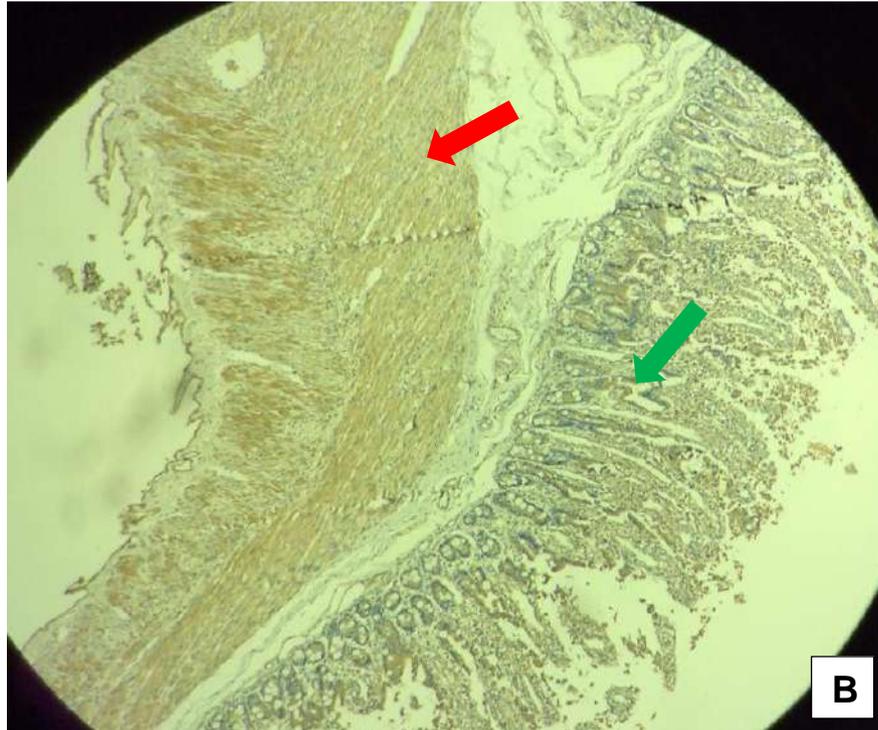




Para las muestras de dos días posteriores al parto, ambas (**figuras 3A y 3B**) presentaron la misma reacción de positividad, la cual fue de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flechas verdes) y del epitelio muscular (flechas rojas).

Figura 4. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el duodeno a tres días posteriores al parto





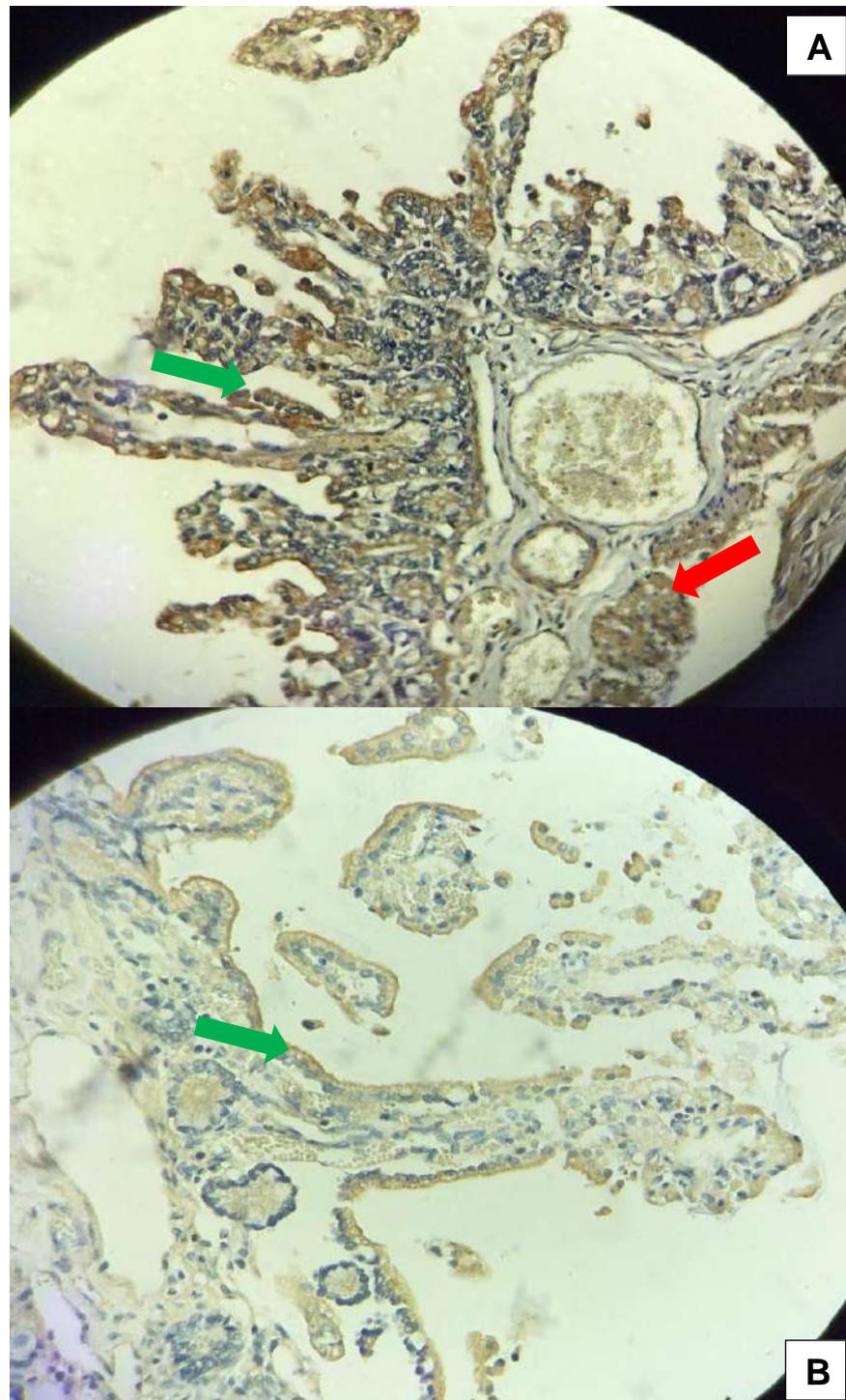
Finalmente, para las muestras de tres días posteriores al parto, en la primera (**figura 4A**) se puede observar una reacción de 3+ tanto para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde), como para las del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura 4B**) se puede observar una reacción de 2+ también para las células de las zonas mencionadas anteriormente.

Tabla 2. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el yeyuno

Muestra	Estadío	Mucosa		Submucosa	Muscular	
		Vellosidades intestinales	Lámina propia		Interna	Externa
9	Día 0	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
10	Día 0	1+	Negativo	1+	1+	1+
11	Día 1	2+	Negativo	Negativo	3+	3+
12	Día 1	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
13	Día 2	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
14	Día 2	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
15	Día 3	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
16	Día 3	2+	Negativo	Negativo	2+	2+

Mediante la **tabla 2** se puede observar que el FcRn estuvo presente en las células del epitelio de las vellosidades intestinales, del epitelio muscular y débilmente en la submucosa, este último solo para una muestra de las evaluadas. Además, estas intensidades variaron ligeramente, y con mayor frecuencia se encontraron entre 2 y 3 cruces.

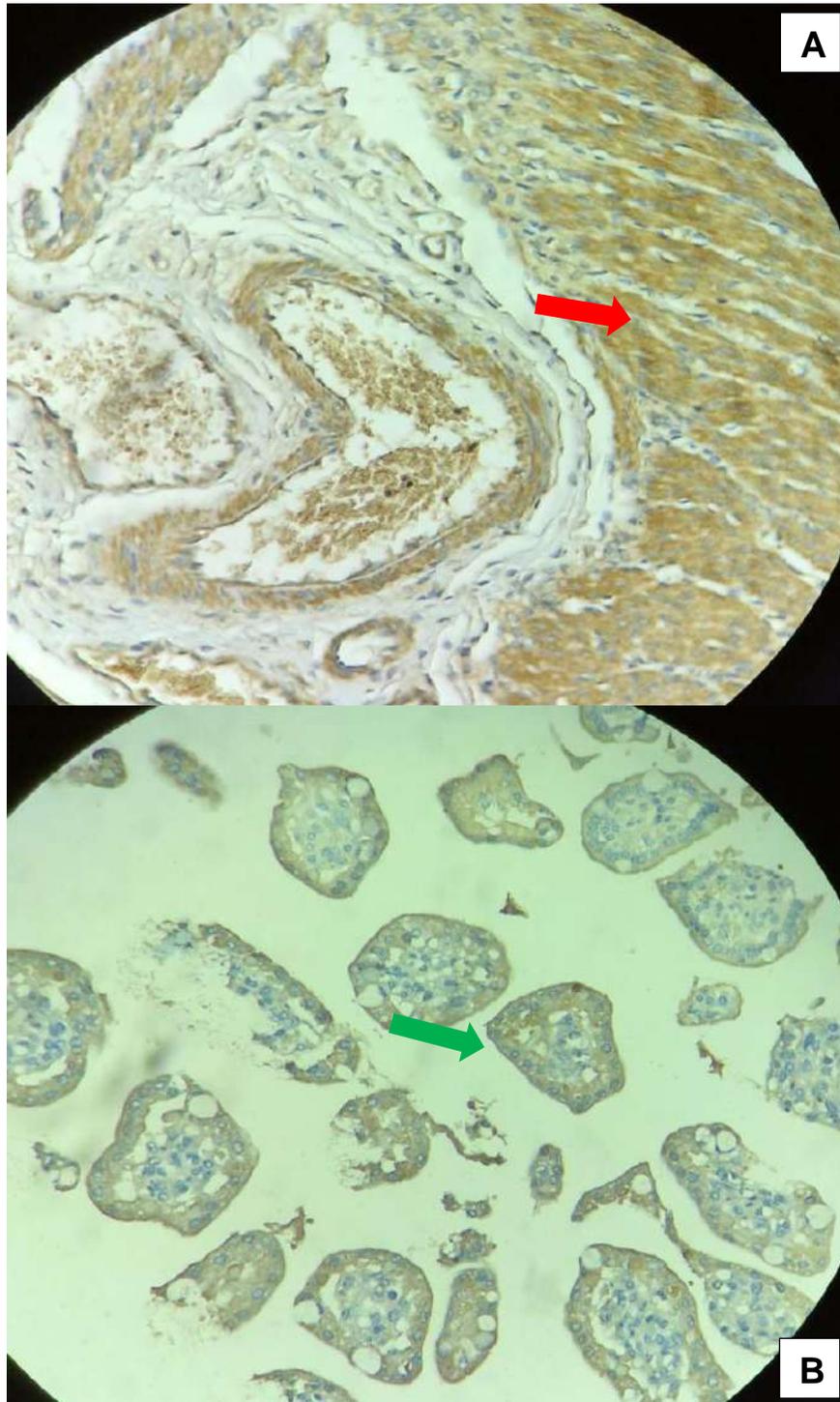
Figura 5. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno durante el mismo día del parto



Para las muestras del día 0 (durante el mismo día del parto), la primera (**figura 5A**) tuvo una reacción de 3+ tanto para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde), como para las del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura**

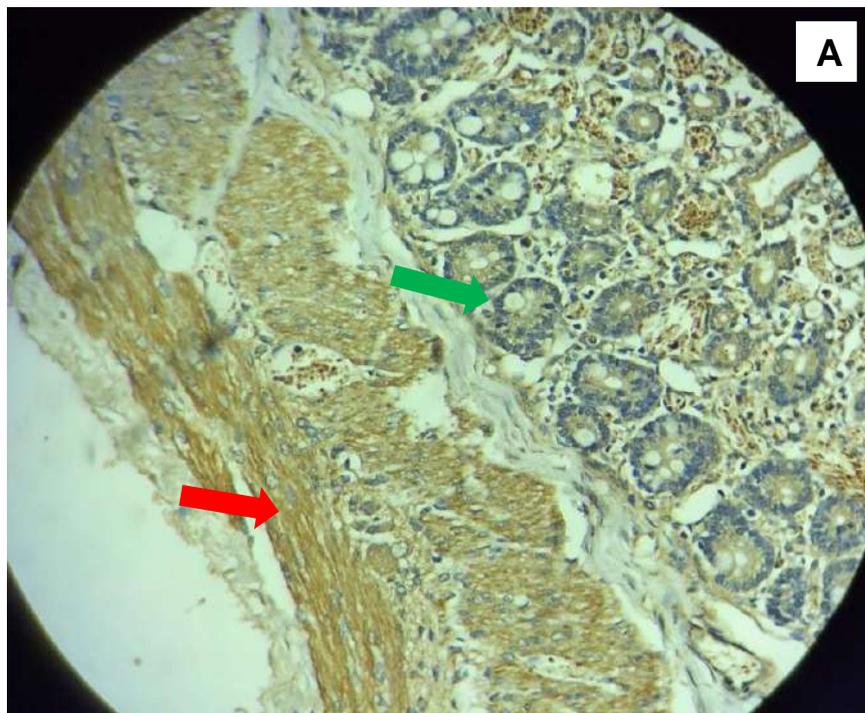
5B) se puede observar una reacción de 1+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde).

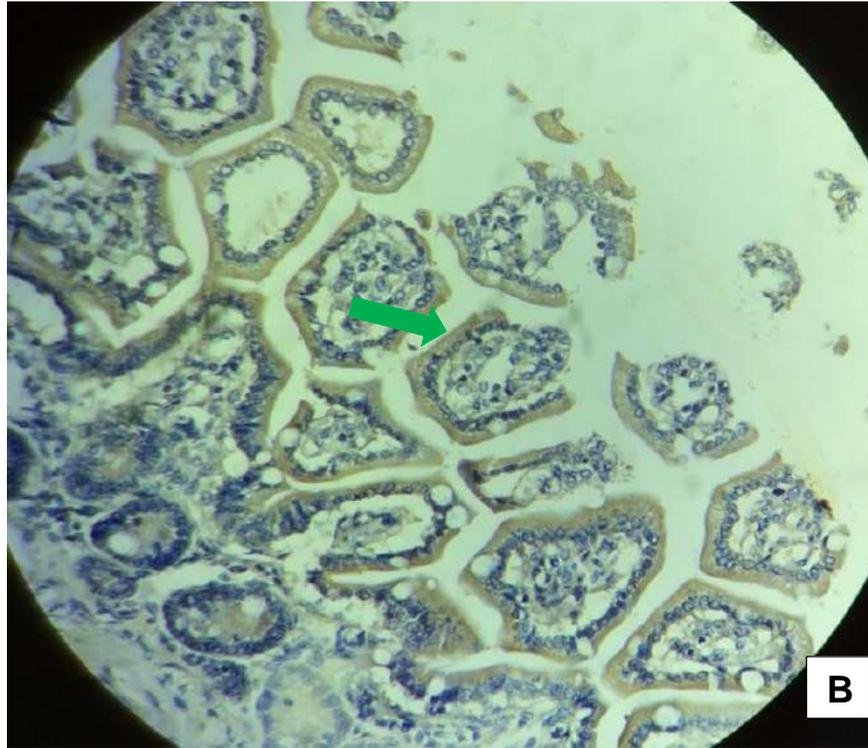
Figura 6. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a un día posterior al parto



Para las muestras del día posterior al parto, en la primera (**figura 6A**) se puede observar una reacción de 3+ para las células del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura 6B**) se puede observar una reacción de 2+ también para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde).

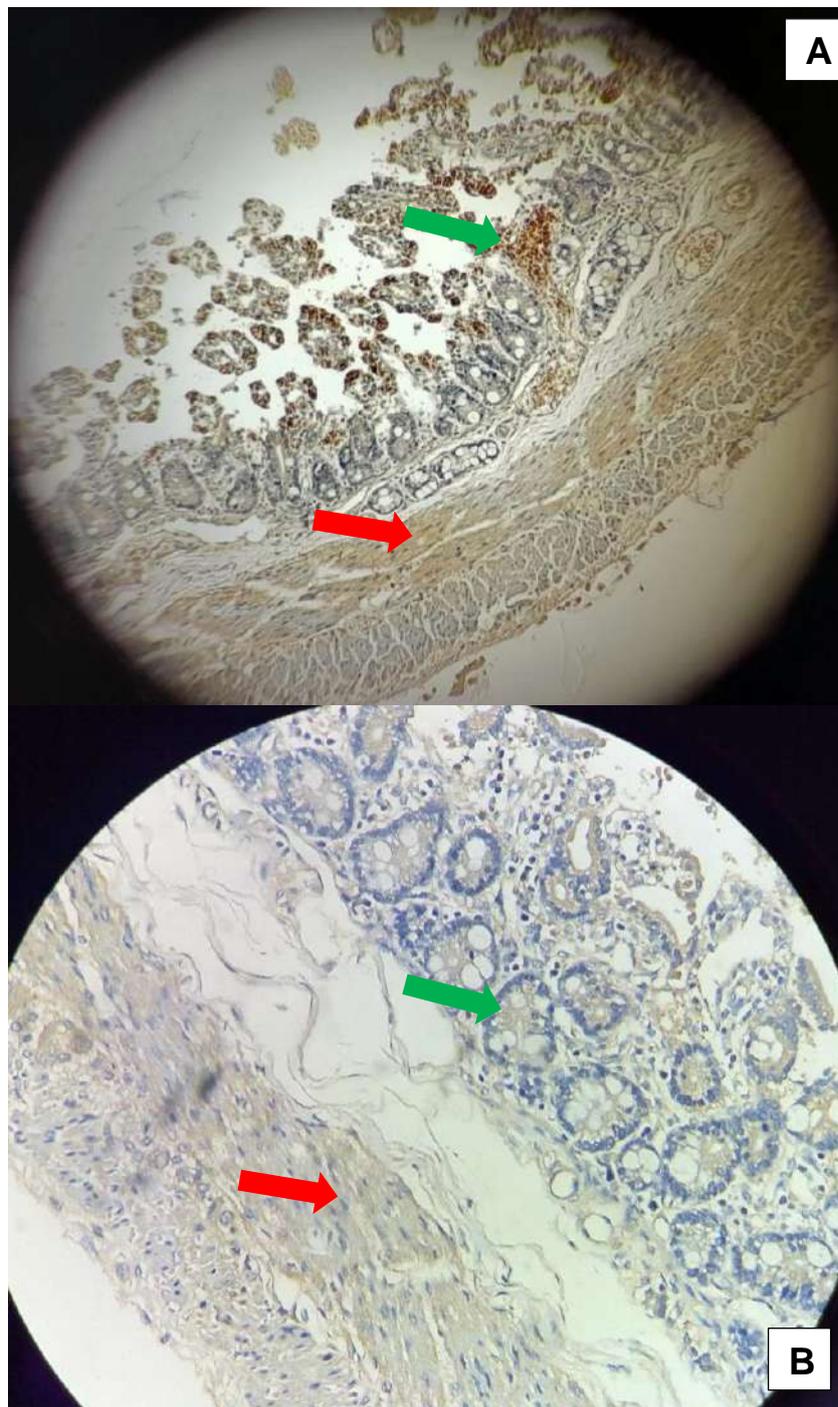
Figura 7. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a dos días posteriores al parto





Para las muestras de dos días posteriores al parto, la primera (**figura 7A**) tuvo una reacción de 3+ tanto para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde), como para las del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura 7B**) se puede observar una reacción de 2+ para las células de epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde).

Figura 8. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el yeyuno a tres días posteriores al parto



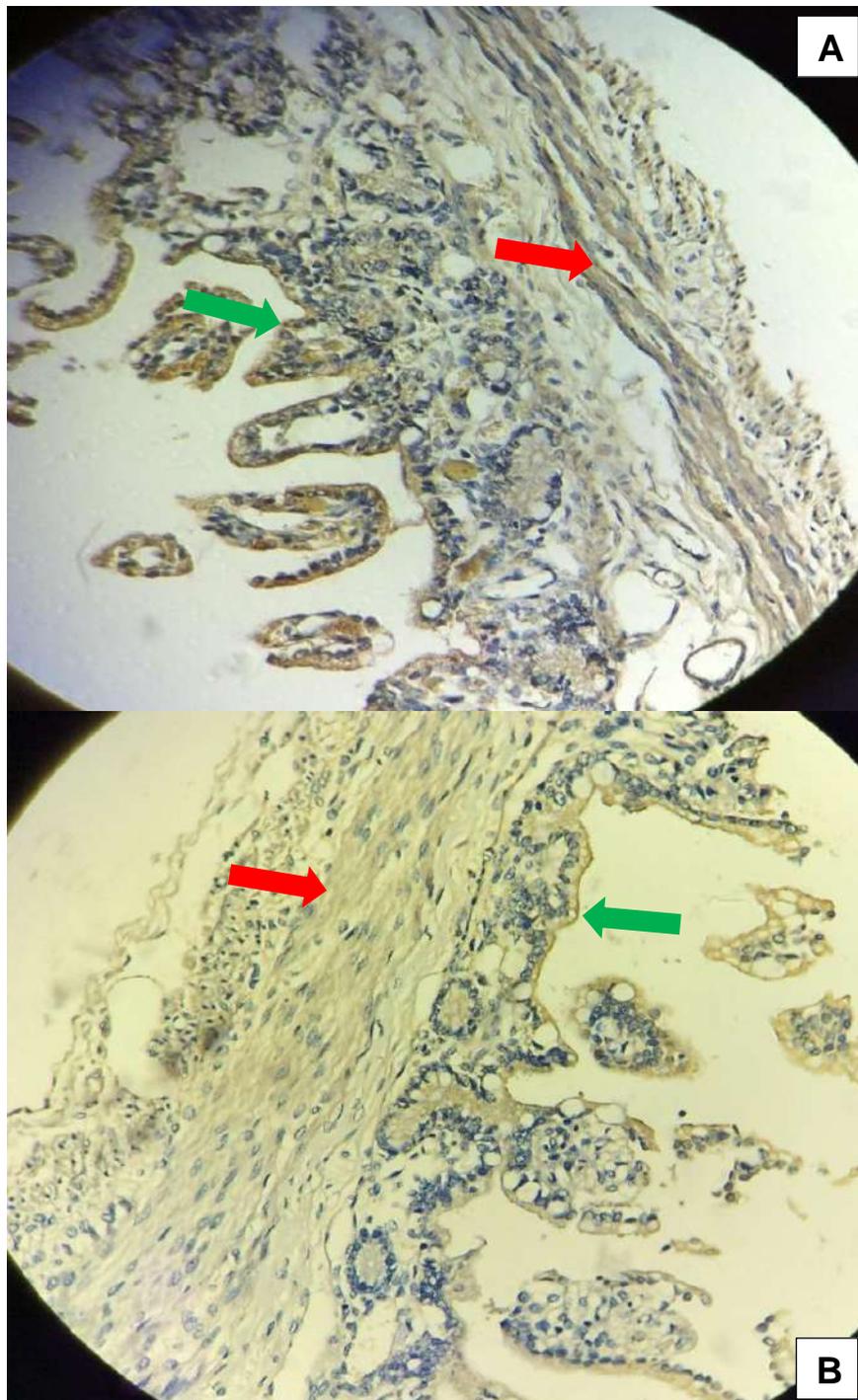
Finalmente, para las muestras de tres días posteriores al parto, ambas (**figuras 8A y 8B**) presentaron la misma reacción de positividad, la cual fue de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flechas verdes) y del epitelio muscular (flechas rojas).

Tabla 3. Caracterización de la expresión del receptor neonatal Fc en el íleon

Muestra	Estadío	Mucosa		Submucosa	Muscular	
		Vellosidades intestinales	Lámina propia		Interna	Externa
17	Día 0	2+	Negativo	1+	2+	2+
18	Día 0	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
19	Día 1	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
20	Día 1	3+	Negativo	Negativo	3+	3+
21	Día 2	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
22	Día 2	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
23	Día 3	2+	Negativo	Negativo	2+	2+
24	Día 3	2+	Negativo	Negativo	2+	2+

Como se puede observar en la **tabla 3**, el FcRn estuvo presente solo en las células del epitelio de las vellosidades intestinales y del epitelio muscular, y en estas zonas, presentó siempre una intensidad entre moderada o intermedia (2+) a fuerte (3+).

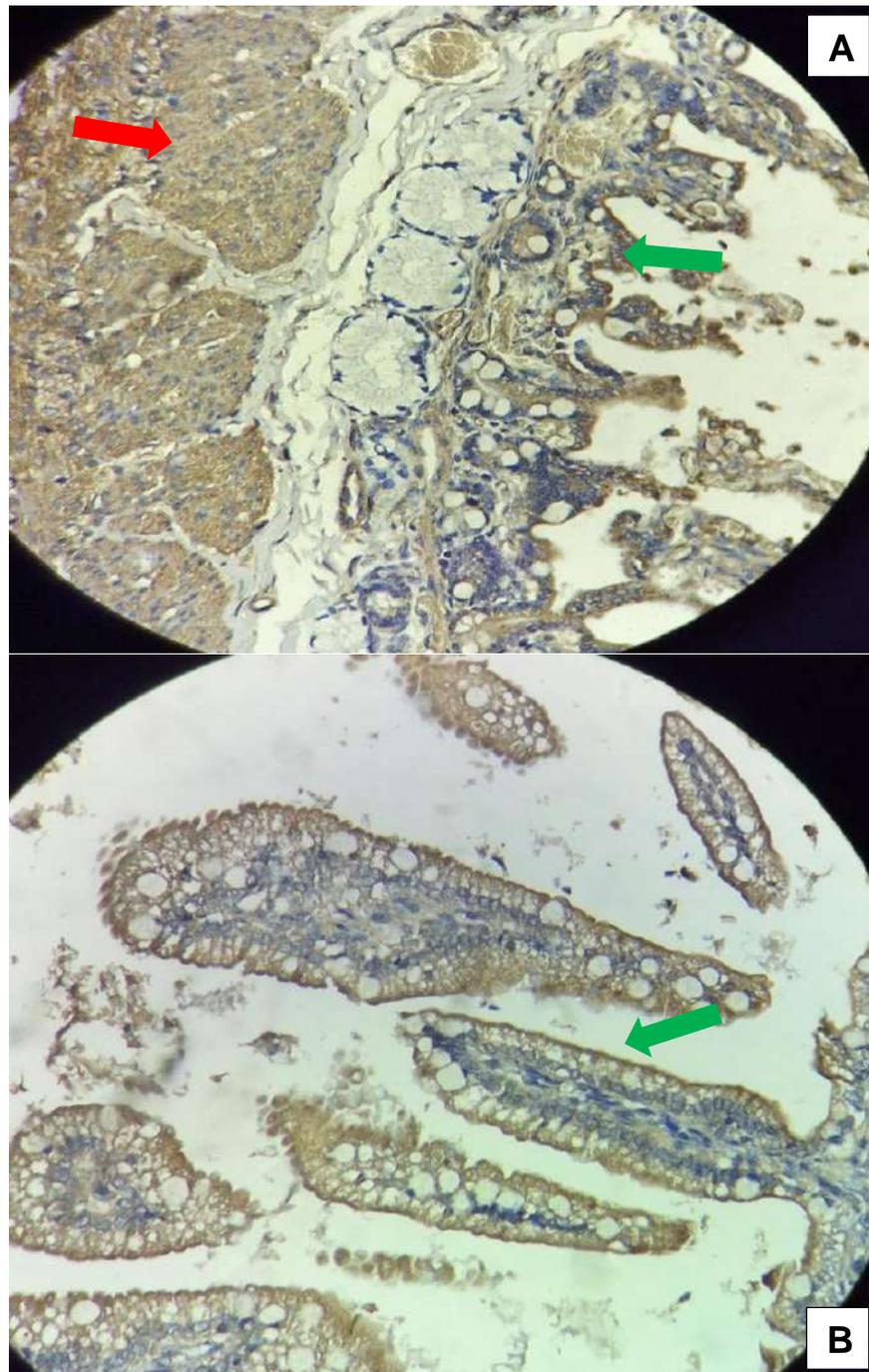
Figura 9. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon durante el mismo día del parto



Para las muestras del día 0 (durante el mismo día del parto), la primera (**figura 9A**) tuvo una reacción de 2+ tanto para las células del epitelio de las vellosidades intestinales

(flecha verde) como para las del epitelio muscular (flecha roja); la segunda (figura 9B) tuvo una reacción de 2+ también para las células de las zonas mencionadas.

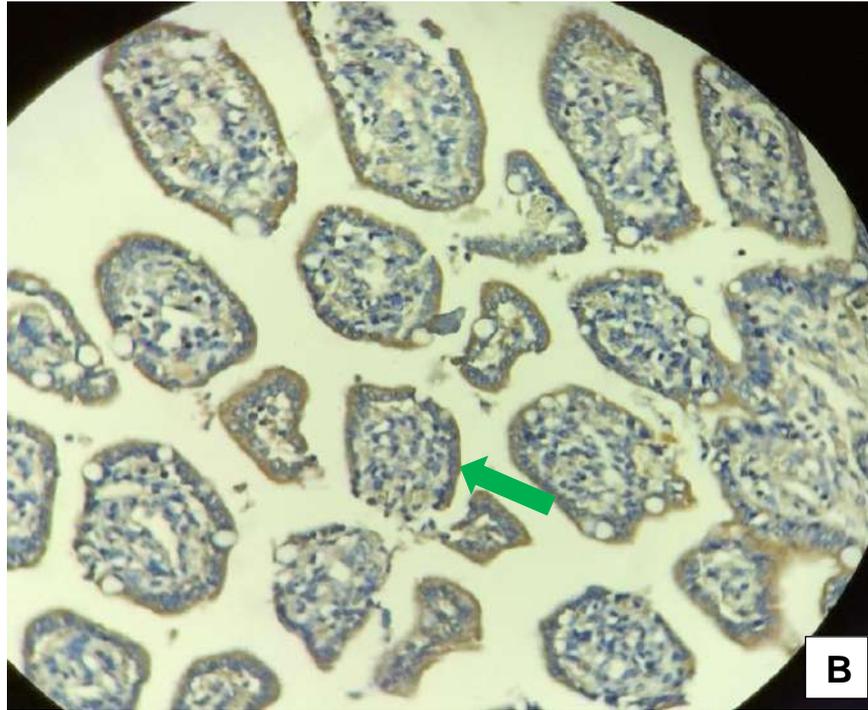
Figura 10. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a un día posterior al parto



Para las muestras del día posterior al parto, la primera (**figura 10A**) tuvo una reacción de 3+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde) y para las del epitelio muscular (flecha roja); en la segunda (**figura 10B**) se puede observar una reacción de 3+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flecha verde).

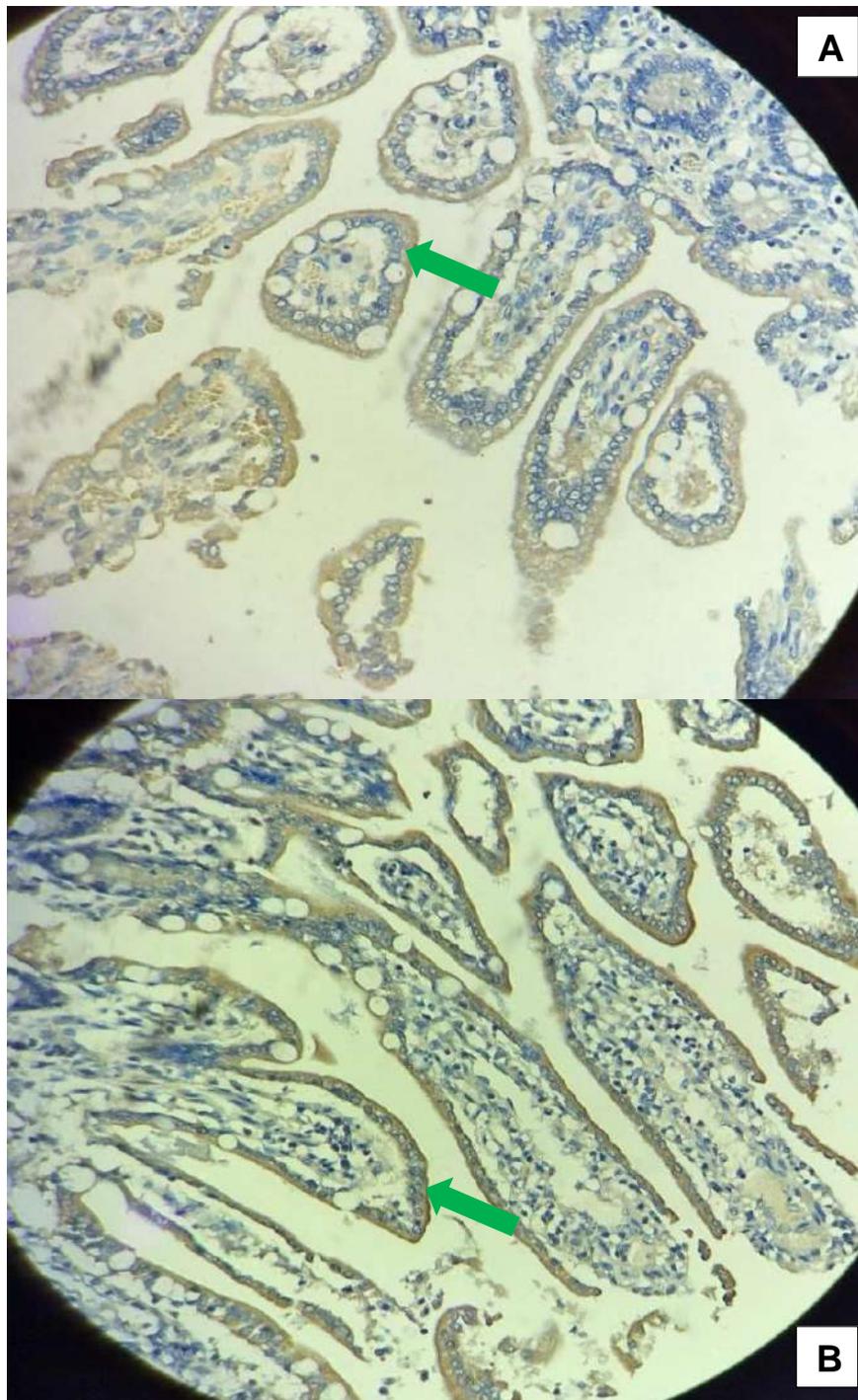
Figura 11. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a dos días posteriores al parto





Para las muestras de dos días posteriores al parto, en ambas (**figuras 11A y 11B**) se puede observar una reacción de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flechas verdes).

Figura 12. Reacción inmunohistoquímica del FcRn en el íleon a tres días posteriores al parto



Finalmente, para las muestras de tres días posteriores al parto, en ambas (**figuras 12A y 12B**) se puede observar una reacción de 2+ para las células del epitelio de las vellosidades intestinales (flechas verdes)

V. DISCUSIÓN

La presencia del FcRn en las células de la mucosa intestinal entre los diferentes días evaluados, y en las distintas regiones del intestino, estuvo entre 2 y 3 cruces para casi todas las muestras evaluadas. Las excepciones fueron las muestras 2 (duodeno) y 10 (yeyuno), que provinieron del mismo día del parto y de una misma alpaca, la cuales tuvieron una reacción débil (1 cruz), aumentando su nivel en el íleon hacia 2 cruces.

Se debe resaltar que sus pares (muestras 1 y 9), que provinieron también del mismo día del parto y de otra alpaca, para las tres regiones del intestino se obtuvo una positividad de entre 2 a 3 cruces. Entonces, esta diferencia puntual podría ser por características muy particulares de ese caso (factores ambientales o genéticos que hayan hecho de que la presencia de este receptor este en baja cantidad), y no se le atribuiría al contexto de que recién en el período de lactancia es que se observa la presencia o aumento de este receptor, como otras investigaciones sí lo han reportado, en el caso de las ratas y ratones (48,57,58).

Por lo tanto, dado que estas primeras muestras no estuvieron expuestas a la ingestión de calostro, y tuvieron una expresión de positividad similar en comparación con los demás estadíos posteriores, esto probablemente demostraría que los niveles de este receptor no serían dependientes del calostro, sino que alcanzarían niveles constantes durante el período gestacional; algo que se ha reportado también en otras investigaciones en humanos, ovejas y bovinos (7,9,10,49).

Además, la presencia del receptor FcRn en la mucosa intestinal se dio tanto para los enterocitos como para las células que conforman las criptas; esto es similar en otras especies como roedores y humanos (2,42,49). No obstante, difiere con otras investigaciones que han evaluado bovinos y ovejas (7,9), para los cuales, se ha reportado la presencia de este receptor solo en las células que conforman la cripta. Esta diferencia podría ser explicada por la teoría de que, para algunas especies, como los

bovinos y ovejas, la IgG en el intestino se absorbe de forma inespecífica, o se absorbe a través de un receptor, hasta ahora desconocido, diferente al FcRn, y que particularmente, se encuentra con mayor frecuencia en las células que conforman estas criptas intestinales (59,60). Entonces, esta positividad adicional encontrada en los enterocitos reforzaría la hipótesis de que, para algunas especies, estas células podrían tener un rol más activo, como de presentadoras de antígenos, y que existe un intercambio de señales moleculares entre la microbiota luminal y el epitelio intestinal, que regula no solo la respuesta inmune, sino también procesos de diferenciación celular (61)

Asimismo, la presencia del FcRn en los enterocitos y/o células de la cripta del intestino es compatible con la teoría de que las inmunoglobulinas de tipo IgG, que pueden provenir del calostro o de la placenta, son absorbidas en esta zona y luego pasarían al torrente sanguíneo a través del lumen intestinal (59,60). Sin embargo, también se ha reportado la presencia de este receptor en la lámina propia, específicamente en linfocitos y/o macrófagos, y debido a ello, surgió la teoría de que, para algunas especies, como en humanos y bovinos, hay además una reabsorción de IgG hacia el propio epitelio del intestino (lámina propia), lo que contribuiría con la resistencia a infecciones tempranas del tracto intestinal (7,50).

Esto probablemente explicaría parte del por qué es frecuente la muerte de camélidos jóvenes o recién nacidos por esta índole (36,62–64), dado que como se ha evidenciado en este estudio, y a diferencia del ser humano o los bovinos, no existe positividad de este receptor en la lámina propia. Esta importancia de la inmunotransferencia pasiva y la resistencia a infecciones, también es resaltada por investigaciones como la de Maximiliano (65) y la de Vásquez (61), en donde describen que las pérdidas de crías de alpacas dentro de los primeros tres o cuatro meses de vida alcanzan cifras elevadas, que en algunos casos, pueden superar el 50%, y llegar inclusive hasta el 80%.

Entonces, esta tesis evidencia que las alpacas desde el nacimiento tendrían esta desventaja adicional de una menor resistencia a infecciones, y que una de las posibles

causas sería la nula positividad del FcRn en esta región de la lámina propia, además de la desventaja ya conocida, que es nacer agammaglobulinémicos. Por este motivo, y como han sugerido diversos autores, los pobladores y asociaciones que se dedican a la cría de alpacas, no solo se deberían preocuparse por la recomendación tradicional de que la cría debe lactar dentro de las 24 horas de vida, sino también, y en conjunto, ejecutar más recomendaciones como la realización de seguimiento sobre la alimentación, chequeos clínicos y laboratoriales durante los primeros meses de vida (36,37,61).

Adicionalmente, la débil positividad del FcRn mostrada de forma difusa en la submucosa y solo para 2 de los 24 casos evaluados, probablemente se deba un fondo inespecífico propio de la técnica de la inmunohistoquímica, en la cual, las causas involucradas principalmente serían un escaso lavado entre los pasos de esta técnica o un exceso de tiempo durante la aplicación del cromógeno. Por otro lado, se encontró al FcRn en las células musculares del epitelio intestinal, algo que esta tesis no podría explicar, dado que es un resultado completamente nuevo para la literatura; solo se ha reportado la existencia de este receptor en células epiteliales (mucosa) para roedores, ovejas, humanos y bovinos; y además para estos dos últimos, en linfocitos y/o macrófagos (lámina propia) (7,50).

Como fortaleza, este sería el primer estudio en abordar la expresión del FcRn en alpacas. Además, este sería el primer estudio en describir según las regiones del intestino delgado en alguna especie, dado que todas las investigaciones previas solo han abordado el duodeno, lo que permitiría complementar el conocimiento sobre esta proteína.

Un tamaño de muestra pequeño y la no evaluación entre subespecies de alpacas, representarían potenciales limitaciones. Esto debido a que no se podría asegurar si estas intensidades de expresión serían así de homogéneas para las alpacas, y que, si no es así, esto podría demostrar el por qué algunas subespecies son más resistentes a infecciones (66).

VI. CONCLUSIONES

El receptor neonatal Fc en intestino delgado de alpacas perinatas (*Vicugna pacos*) estuvo presente en los enterocitos y células de las criptas de la mucosa, así como también en las células musculares.

La homogeneidad en la expresión de niveles intermedio e intenso del FcRn en casi todos los casos evaluados, incluyendo los casos que no consumieron calostro, indicaría que la consolidación de los niveles de esta proteína ocurriría durante el período de gestación.

VII. RECOMENDACIONES

Comparar la caracterización del receptor neonatal Fc en intestino delgado de diferentes especies de alpacas.

Evaluar la caracterización del receptor neonatal Fc en intestino delgado de alpacas durante períodos más amplios, para corroborar si los niveles de esta proteína se mantienen a lo largo de la vida de este animal o no (como ocurre en los roedores, ya los niveles de esta proteína disminuyen significativamente posterior al período de lactancia).

Corroborar los resultados de este estudio con posteriores investigaciones de este receptor en alpacas, especialmente los que se presentaron con respecto a la presencia del FcRn en las células musculares, y que, de esta forma, también se pueda determinar qué rol o función cumpliría en estas células.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simister N, Mostov K. An Fc receptor structurally related to MHC class I antigens. *Nature*. 1989;337(6203):184-7.
2. Rodewald R. pH-dependent binding of immunoglobulins to intestinal cells of the neonatal rat. *J Cell Biol*. 1976;71(2):666-9.
3. Ghetie V, Ward E. Multiple roles for the major histocompatibility complex class I-related receptor FcRn. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:739-66.
4. Mestecky J, Russell M. Passive and active protection against disorders of the gut. *Veterinary Quarterly*. 1998;20(sup3):83-7.
5. Duncan J, Wilkie B, Hiestand F, Winter A. The serum and secretory immunoglobulins of cattle: characterization and quantitation. *J Immunol*. 1972;108(4):965-76.
6. Corbeil L, Hall C, Lein D, Corbeil R, Duncan J. Immunoglobulin classes in genital secretions of mycoplasma-infected and normal heifers. *Infect Immun*. 1976;13(6):1595-600.
7. Newby T, Bourne F. The nature of the local immune system of the bovine small intestine. *Immunology*. 1976;31(3):475-80.
8. Butler J. Bovine immunoglobulins: an augmented review. *Vet Immunol Immunopathol*. 1983;4(1-2):43-152.
9. Mayer B, Zolnai A, Frenyó L, Jancsik V, Szentirmay Z, Hammarström L, et al. Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology*. 2002;107(3):288.
10. Besser T, McGuire T, Gay C, Pritchett L. Transfer of functional immunoglobulin G (IgG) antibody into the gastrointestinal tract accounts for IgG clearance in calves. *J Virol*. 1988;62(7):2234-7.
11. Salmon H. The mammary gland and neonate mucosal immunity. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999;72(1-2):143-55.
12. Besser T, Gay C, McGuire T, Evermann J. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *J Virol*. 1988;62(7):2238-42.

13. Newby T, Bourne F. Relative resistance of bovine and porcine immunoglobulins to proteolysis. *Immunol Commun.* 1976;5(7-8):631-5.
14. Kulseth M, Krajci P, Myklebost O, Rogne S. Cloning and characterization of two forms of bovine polymeric immunoglobulin receptor cDNA. *DNA Cell Biol.* 1995;14(3):251-6.
15. Mostov K, Deitcher D. Polymeric immunoglobulin receptor expressed in MDCK cells transcytoses IgA. *Cell.* 1986;46(4):613-21.
16. Tolopka JI, Attallah CV. Expresión de la porción soluble del receptor neonatal humano para la fracción inmunoglobulínica Fc γ , empleando células de mamífero. En: XXI Encuentro de Jóvenes Investigadores de la Universidad Nacional del Litoral. Argentina; 2017.
17. Marín J, Romero K, Rivera R, Johnson W, González B. Y-chromosome and mtDNA variation confirms independent domestications and directional hybridization in South American camelids. *Anim Genet.* 2017;48(5):591-5.
18. Ormachea E, Olarte U, Zanabria V, Melo M, Masias Y, Ormachea E, et al. Composición de la leche de alpaca Huacaya (*Vicugna pacos*) y de llama (*Lama glama*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú [Internet].* 2021 [citado 9 de octubre de 2021];32(1).
19. Quispe E. Adaptaciones hematológicas de los Camélidos Sudamericanos que viven en zonas de elevadas altitudes. *Revista complutense de ciencias veterinarias.* 2011;5(1):1-26.
20. Genin D, Alzérreca H. Campos nativos de pastoreo y producción animal en la puna semiárida y árida andina. *Sci chang planét/Sécher.* 2006;17:265-74.
21. Quispe E, Rodríguez T, Iniguez L, Mueller J. Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica. *Animal Genetic Resources Information.* 2009;45:1-14.
22. Salvá B, Zumalacárregui J, Figueira A, Osorio M, Mateo J. Nutrient composition and technological quality of meat from alpacas reared in Peru. *Meat science.* 2009;82:450-5.
23. Ormachea E, Calsín B, Olarte U. Características textiles de la fibra en alpacas huacaya del distrito de Corani Carabaya, Puno. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research.* 2015;17(2):215-20.

24. Cruz A, Morante R, Gutiérrez J, Torres R, Burgos A, Cervantes I. Genetic parameters for medullated fiber and its relationship with other productive traits in alpacas. *Animal*. 2018;1-7.
25. Paucar R, Alfonso L, Soret B, Mendoza G, Alvarado F. Textile characteristics of fiber from Huacaya alpacas (*Vicugna pacos*). *Scientia Agropecuaria*. 2019;10(3):429-32.
26. Polidori P, Renieri C, Antonini M, Passamonti P, Pucciarelli F. Meat fatty acid composition of llama (*Lama glama*) reared in the Andean highlands. *Meat Sci*. 2007;75(2):356-8.
27. Coates W, Ayerza R. Fatty acid composition of llama muscle and internal fat in two Argentinian herds. *Small Ruminant Research - SMALL RUMINANT RES*. 1 de mayo de 2004;52:231-8.
28. Abrahaley A, Leta S. Medicinal value of camel milk and meat. *Journal of Applied Animal Research*. 2018;46(1):552-8.
29. Yadav A, Kumar R, Priyadarshini L, Singh J. Composition and medicinal properties of camel milk: A Review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*. 1 de enero de 2015;34:83.
30. Shori A. Camel milk as a potential therapy for controlling diabetes and its complications: A review of in vivo studies. *J Food Drug Anal*. 2015;23(4):609-18.
31. Mirmiran P, Ejtahed H, Angoorani P, Eslami F, Azizi F. Camel Milk Has Beneficial Effects on Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Int J Endocrinol Metab*. 2017;15(2):e42150.
32. Malik A, Al A, Skrzypczak E, Jankun J. A study of the anti-diabetic agents of camel milk. *Int J Mol Med*. 2012;30(3):585-92.
33. Gul W, Farooq N, Anees D, Khan U, Rehan F. Camel Milk: A Boon to Mankind. *European Research Studies Journal*. 2015;3:23-9.
34. Zibae S, Hosseini S, Yousefi M, Taghipour A, Kiani M, Noras M. Nutritional and Therapeutic Characteristics of Camel Milk in Children: A Systematic Review. *Electron Physician*. 2015;7(7):1523-8.
35. Soto S, Salvá B, Méndez N, Canales I, Mateo J. Compuestos volátiles en carne de alpaca (*vicugna pacos*). Comparación entre carne con y sin el olor atípico atribuido al consumo de arbustos tolares. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*. 2015;40(1):38-43.

36. Maximiliano J, Maturrano L, Castillo H, Guzmán K, Pérez D, Luna L, et al. Concentraciones de inmunoglobulina G sérica en alpacas neonatas muertas por enterotoxemia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2018;29(2):635-42.
37. Santa Cruz Sanchez O. Determinación del tiempo de producción de IgG en crías de alpaca (*Vicugna pacos*) [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2009.
38. Vásquez Cachay M. Morfometría de la mucosa del intestino delgado de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
39. Vásquez Cachay M. Relación de medidas biométricas y el desarrollo macroscópico del intestino de la cría de alpaca (*vicugna pacos*) [[Tesis]]. [Perú]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2021.
40. Roopenian D, Akilesh S. FcRn: the neonatal Fc receptor comes of age. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(9):715-25.
41. Mayer B, Doleschall M, Bender B, Bartyik J, Bosze Z, Frenyó L, et al. Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) in the bovine mammary gland. *J Dairy Res*. 2005;72:107-12.
42. Junghans R. Finally! The Brambell receptor (FcRB). Mediator of transmission of immunity and protection from catabolism for IgG. *Immunol Res*. 1997;16(1):29-57.
43. Mayer B, Zolnai A, Frenyó L, Jancsik V, Szentirmay Z, Hammarström L, et al. Localization of the sheep FcRn in the mammary gland. *Vet Immunol Immunopathol*. 2002;87(3-4):327-30.
44. Neuber T, Frese K, Jaehrling J, Jäger S, Daubert D, Felderer K, et al. Characterization and screening of IgG binding to the neonatal Fc receptor. *MAbs*. 2014;6(4):928-42.
45. Spiekermann G, Finn P, Ward E, Dumont J, Dickinson B, Blumberg R, et al. Receptor-mediated immunoglobulin G transport across mucosal barriers in adult life: functional expression of FcRn in the mammalian lung. *J Exp Med*. 2002;196(3):303-10.
46. Vogelzang A, Lozza L, Reece S, Perdomo C, Zedler U, Hahnke K, et al. Neonatal Fc Receptor Regulation of Lung Immunoglobulin and CD103+ Dendritic Cells

- Confers Transient Susceptibility to Tuberculosis. *Infect Immun*. 2016;84(10):2914-21.
47. Litzman J. Influence of FCRN expression on lung decline and intravenous immunoglobulin catabolism in common variable immunodeficiency patients. *Clinical and experimental immunology [Internet]*. 2014 [citado 9 de octubre de 2021];178(1).
 48. Martín M, Wu S, Walsh J. Ontogenetic development and distribution of antibody transport and Fc receptor mRNA expression in rat intestine. *Dig Dis Sci*. 1997;42(5):1062-9.
 49. Israel E, Taylor S, Wu Z, Mizoguchi E, Blumberg R, Bhan A, et al. Expression of the neonatal Fc receptor, FcRn, on human intestinal epithelial cells. *Immunology*. 1997;92(1):69-74.
 50. Dickinson B, Badizadegan K, Wu Z, Ahouse J, Zhu X, Simister NE, et al. Bidirectional FcRn-dependent IgG transport in a polarized human intestinal epithelial cell line. *J Clin Invest*. 1999;104(7):903-11.
 51. Martínez J, Socorro C. Inmunohistoquímica en el cáncer de mama. Herramienta necesaria en la actualidad. *MediSur*. 2018;16(1):209-13.
 52. Socorro C, Quiñones A. Is immunohistochemistry a miracle tool? *MediSur*. 2017;15(6):763-4.
 53. Ferrufino J, Taxa L, Angeles G. Histología normal del intestino delgado. *Revista Medica Herediana*. 1996;7(1):46-57.
 54. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Concepción o elección del diseño de investigación. En: *Metodología de la Investigación*. Quinta edición. México; 2014. p. 137-44.
 55. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Recolección de datos cuantitativos. En: *Metodología de la Investigación*. Quinta edición. México; 2014. p. 217-36.
 56. Smith C, Mendoza G, Barbeito C, Ghezzi M, Smith C, Mendoza G, et al. Evaluación de las condiciones de bienestar animal de camélidos sudamericanos ingresados al camal municipal de Huancavelica, Perú. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 2019;10(2):379-90.

57. Ghetie V, Hubbard J, Kim J, Tsen M, Lee Y, Ward E. Abnormally short serum half-lives of IgG in beta 2-microglobulin-deficient mice. *Eur J Immunol.* 1996;26(3):690-6.
58. Berryman M, Rodewald R. Beta 2-microglobulin co-distributes with the heavy chain of the intestinal IgG-Fc receptor throughout the transepithelial transport pathway of the neonatal rat. *J Cell Sci.* 1995;108 (Pt 6):2347-60.
59. Yoshida M, Masuda A, Kuo T, Kobayashi K, Claypool S, Takagawa T, et al. IgG transport across mucosal barriers by neonatal Fc receptor for IgG and mucosal immunity. *Springer Semin Immunopathol.* 2006;28(4):397-403.
60. Cervenak J, Kacskovics I. The neonatal Fc receptor plays a crucial role in the metabolism of IgG in livestock animals. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;128(1-3):171-7.
61. Vásquez Cachay M, Vega Acosta H. Desarrollo del epitelio del tracto intestinal y su participación en la defensa del organismo en mamíferos. *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria.* 2012;13(7):1-40.
62. Jiménez CEP, Espada M del CM, Vázquez MDC. Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista complutense de ciencias veterinarias.* 2010;4(1):37-50.
63. Garmendia A, Aaron G, Demartini J, Mcguire T. Failure of passive immunoglobulin transfer: a major determinant of mortality in newborn alpacas (*Lama pacos*). *American Journal of Veterinary Research.* 1987;48(10):1472-6.
64. Rosadio R, Maturrano L, Pérez D, Luna L. El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* 2012;23(3):261-71.
65. Maximiliano Guerra J. Falla de transferencia pasiva de inmunoglobulina G y su asociación con mortalidad por enterotoxemia en alpacas neonatas [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
66. Tian Z, Shi F, Zhong F, Bai D, Zhang X. Analysis of Fcgrt gene polymorphism in indigenous Chinese sheep and its association with colostrum IgG concentration. *Genet Mol Res.* 2015;14(1):2461-70.

X. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos

Código de lámina histológica evaluada:
1. Día del parto de la muestra: a) Durante el mismo día b) Posterior a 1 día c) Posterior a 2 días d) Posterior a 3 días
2. Región del intestino evaluada: a) Duodeno b) Yeyuno c) Íleon
3. Descripción detallada de la presencia del FcRn en la lámina observada: <hr/>

Anexo 2. Aprobación de la investigación



Pachacámac, 29 de mayo de 2018

Señor Doctor
ANTONIO RAMÍREZ VALLEJOS
Decano
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Presente.-

De mi consideración:

Sirva la presente para saludarlo cordialmente y a la vez informarle, que luego de haber revisado el proyecto de tesis intitulado "Características de la expresión y distribución del receptor neonatal Fc (FcRn) en intestino delgado de alpacas (*Vicugna pacos*) perinatas" presentado por el Bachiller Claudio Augusto San Martín Suarez, doy conformidad para que el proyecto en mención se someta a evaluación por parte del comité correspondiente.

Agradeciendo la atención brindada a la presente, quedo de usted.

Atentamente,

Mg. MV. Hugo Castillo Doloriert
Asesor de la tesis
Docente EP Medicina Veterinaria

Anexo 3. Imágenes adicionales sobre la ejecución de la presente investigación.



1. Estancia alpaquera del distrito de Pilpichaca, ubicado en la provincia de Huaytará, departamento de Huancavelica.

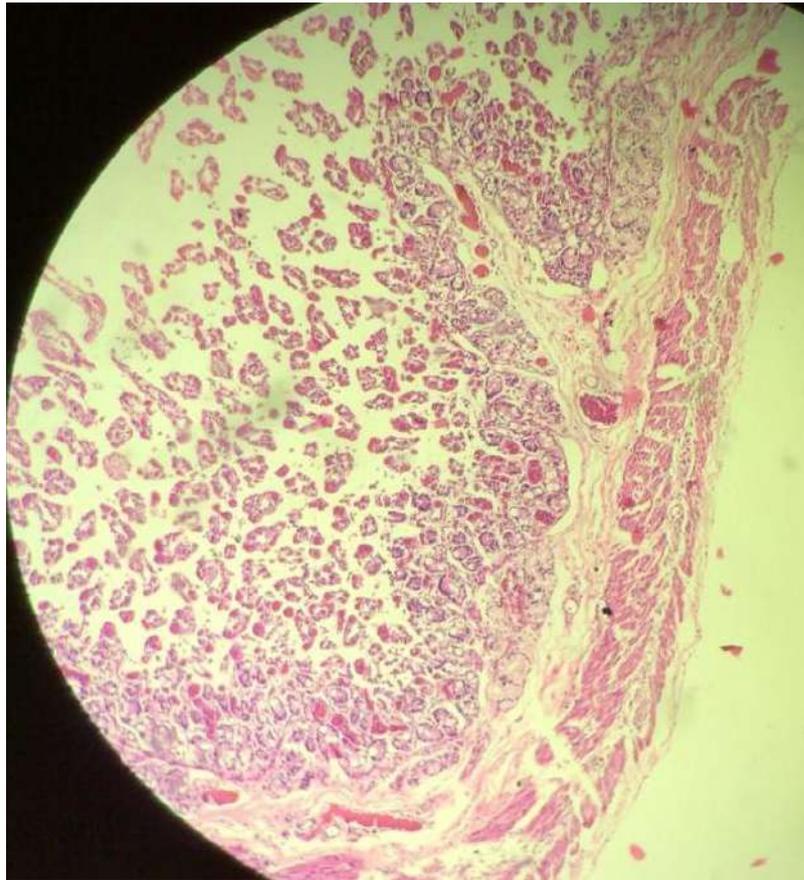


2. Procesamiento de las muestras recolectadas.

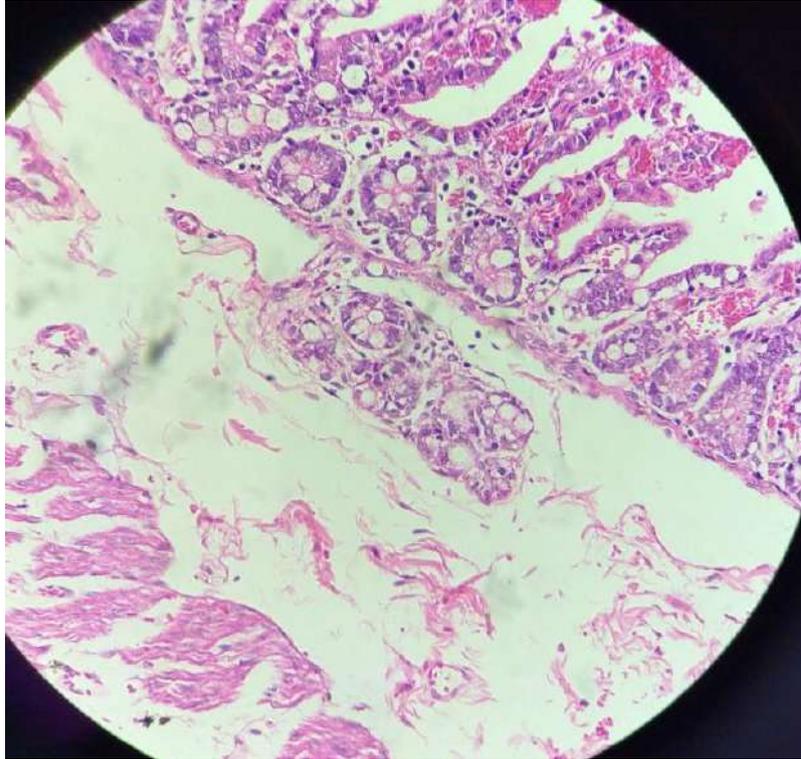


3. Elaboración de las láminas histológicas.

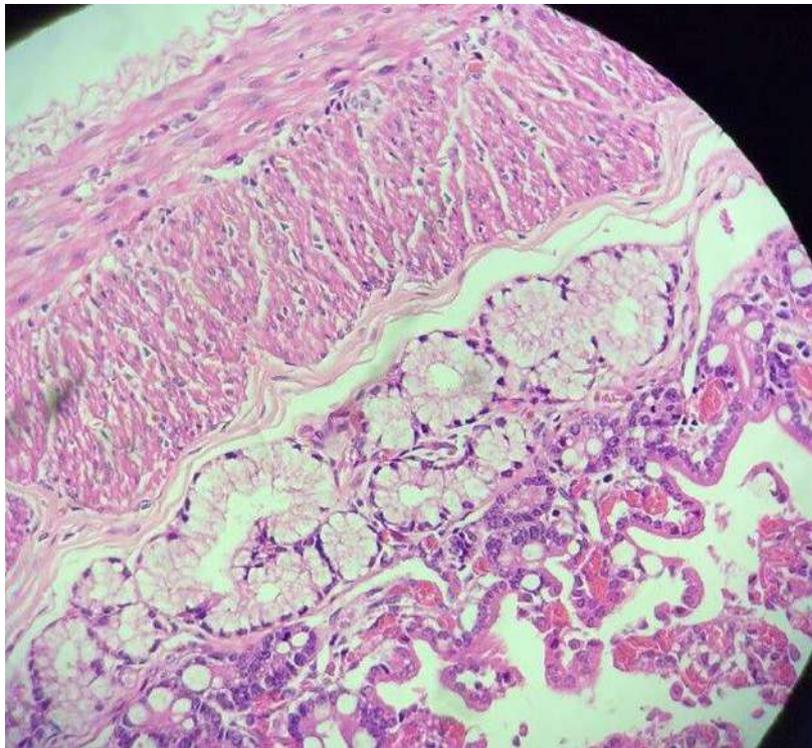
Anexo 3. Imágenes adicionales sobre la visualización de las láminas histológicas (hematoxilina-eosina) previo a la evaluación con la IHQ. A:Duodeno; B:Yeyuno; C:Íleon.



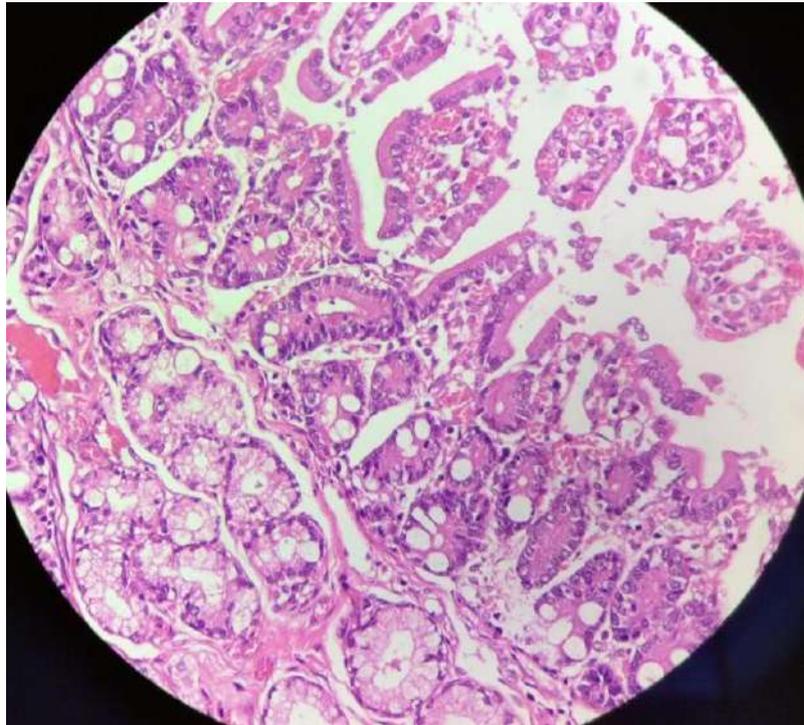
A1. Reconocimiento de la morfología en la muestra 1



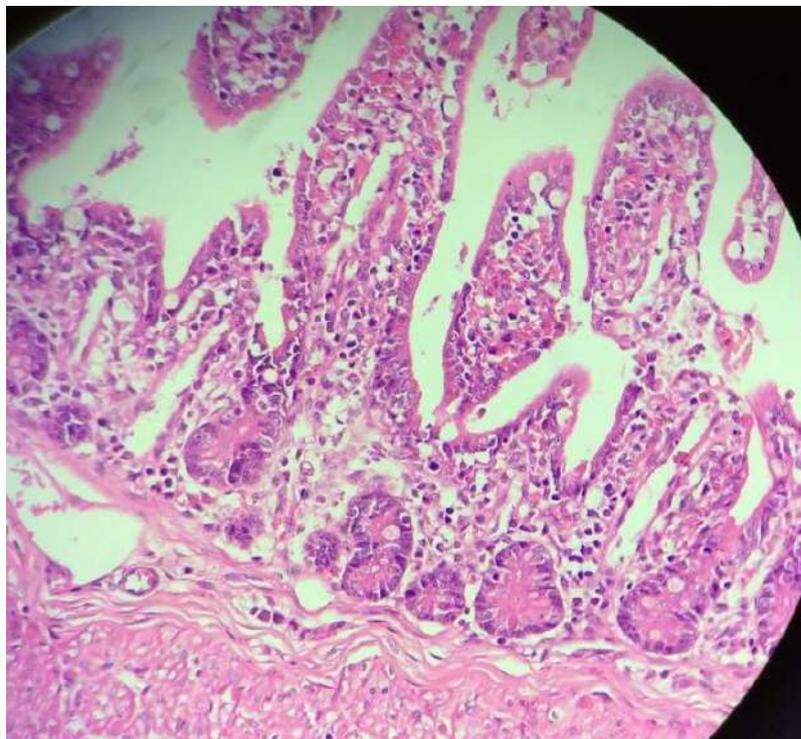
A2. Reconocimiento de la morfología en la muestra 2



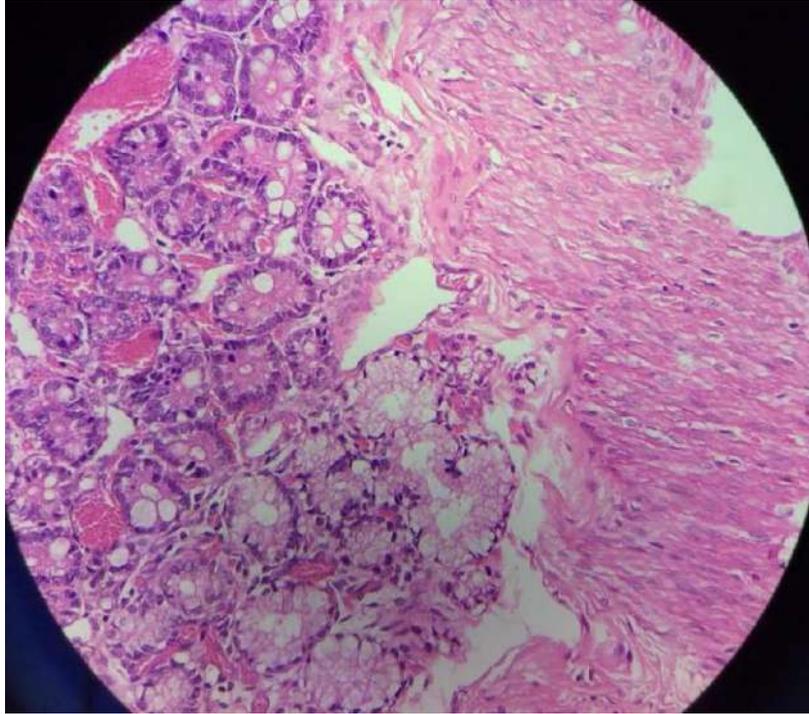
A3. Reconocimiento de la morfología en la muestra 3



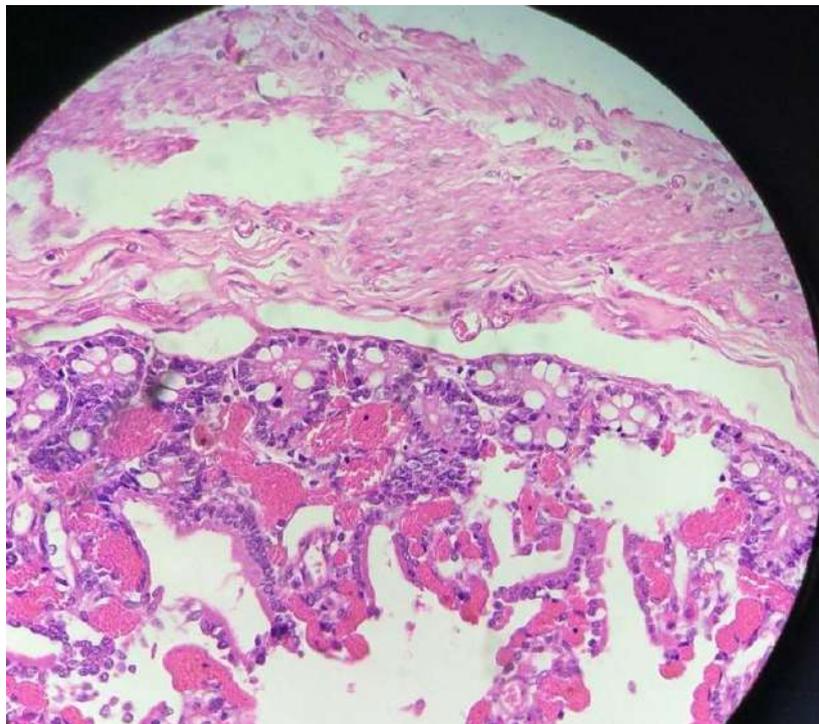
A4. Reconocimiento de la morfología en la muestra 4



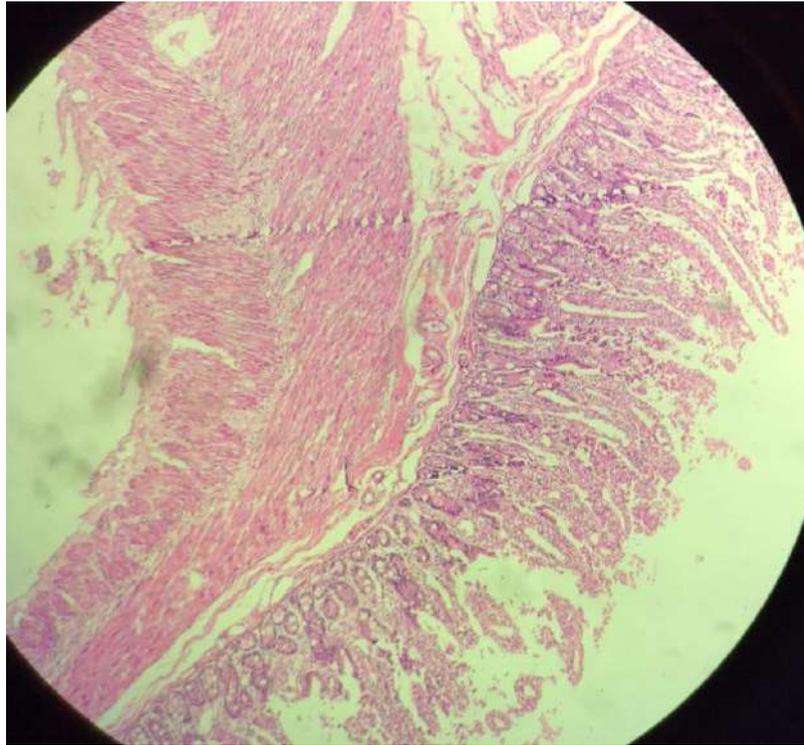
A5. Reconocimiento de la morfología en la muestra 5



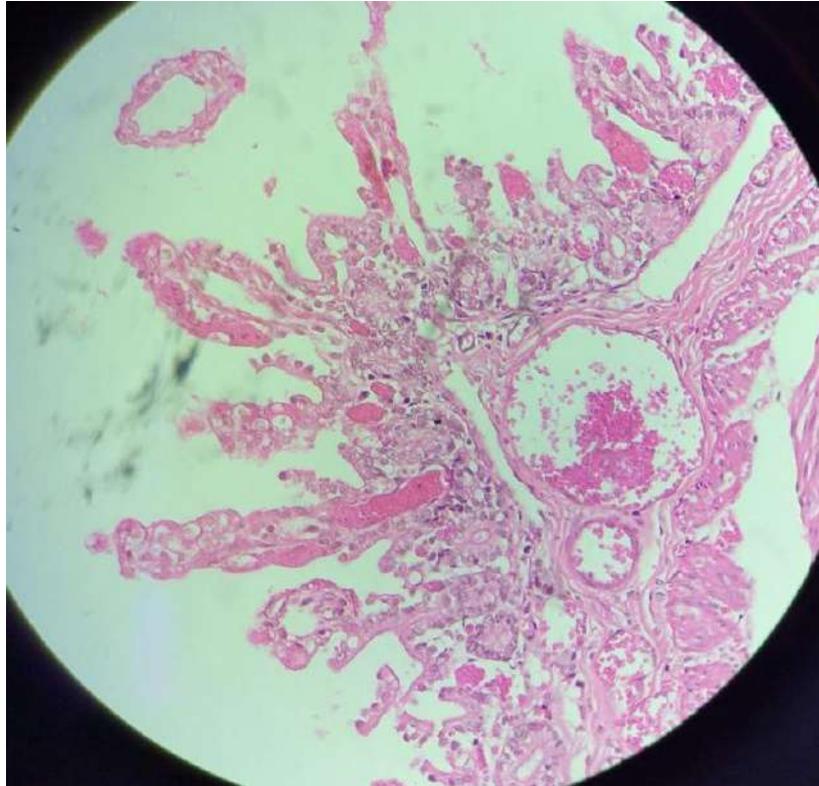
A6. Reconocimiento de la morfología en la muestra 6



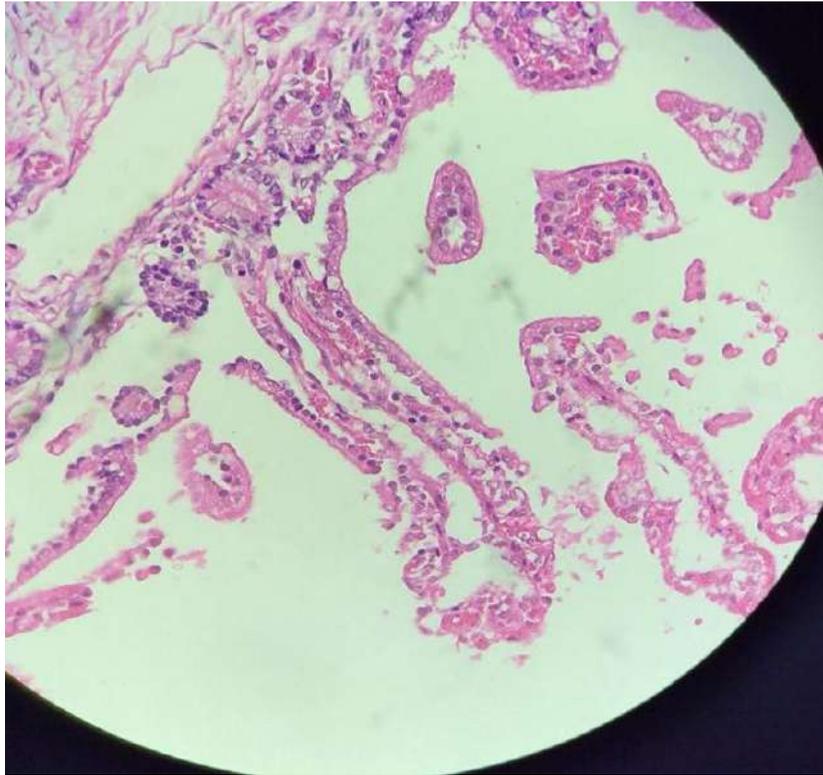
A7. Reconocimiento de la morfología en la muestra 7



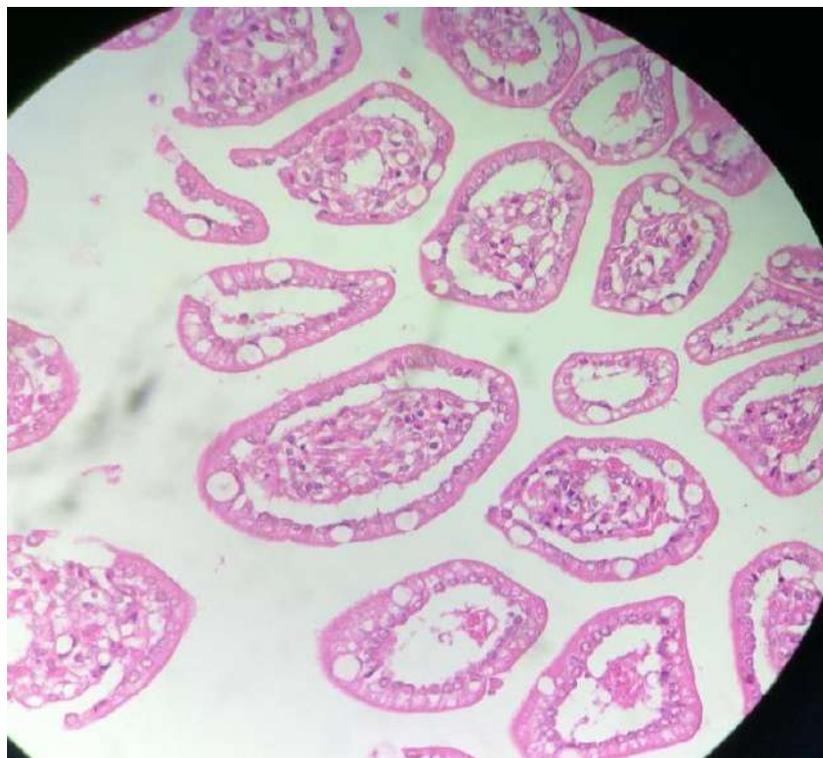
A8. Reconocimiento de la morfología en la muestra 8



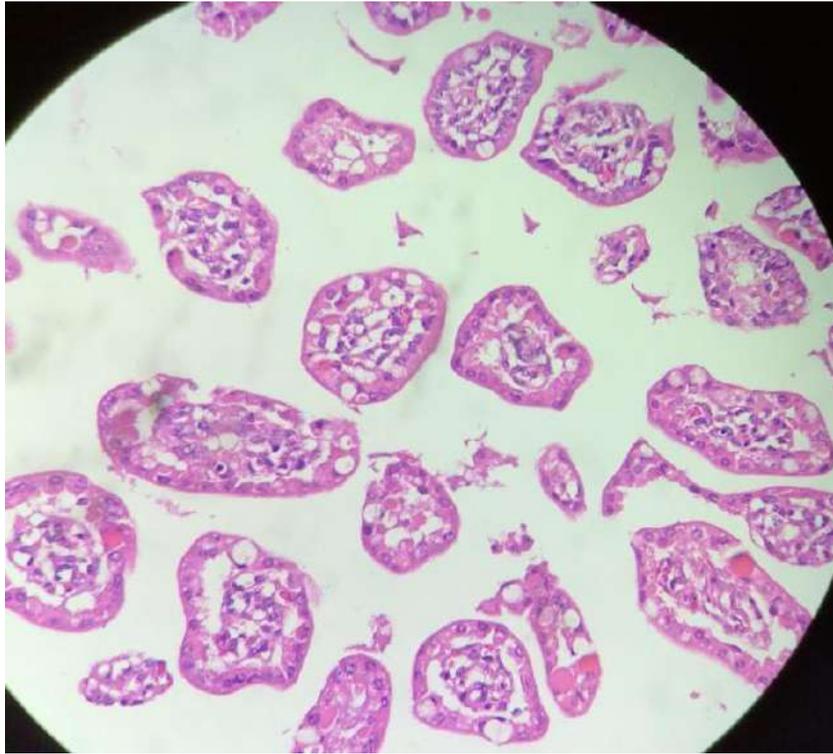
B1. Reconocimiento de la morfología en la muestra 9



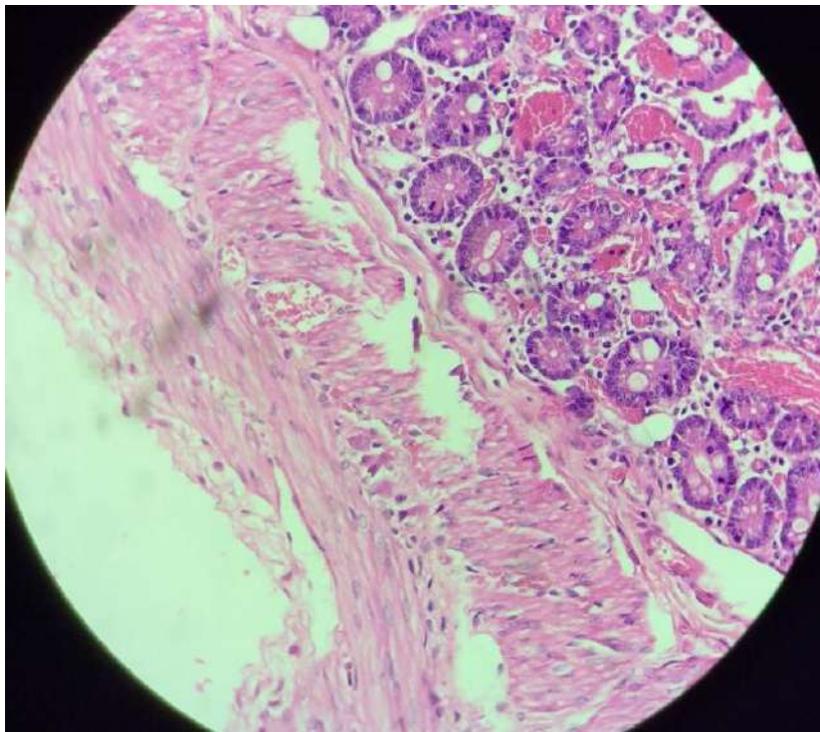
B2. Reconocimiento de la morfología en la muestra 10



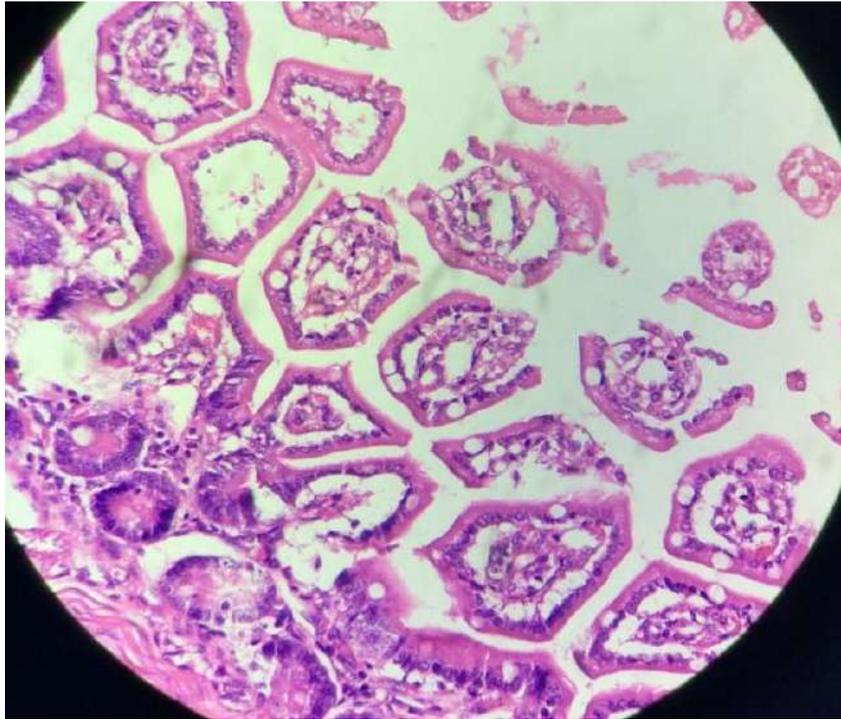
B3. Reconocimiento de la morfología en la muestra 11



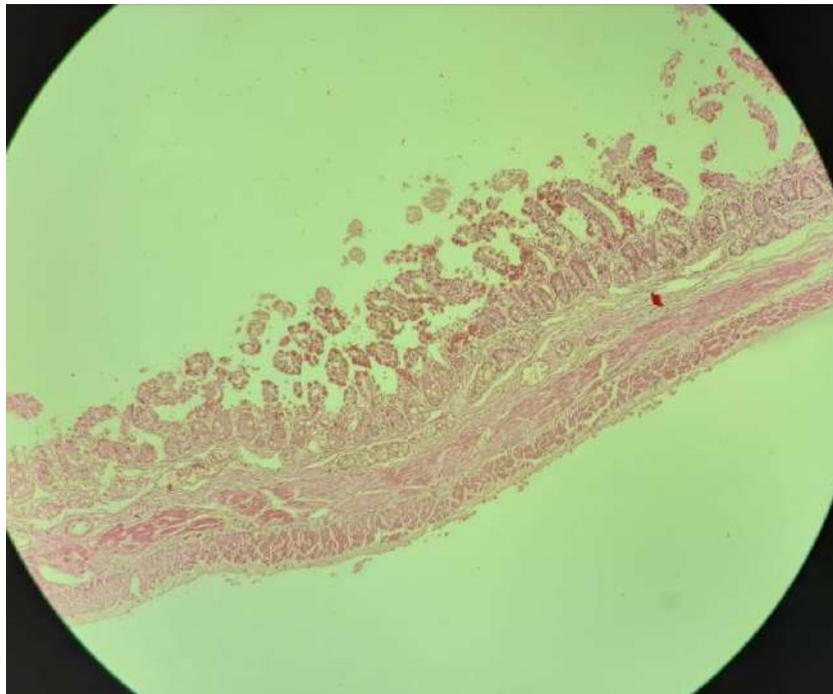
B4. Reconocimiento de la morfología en la muestra 12



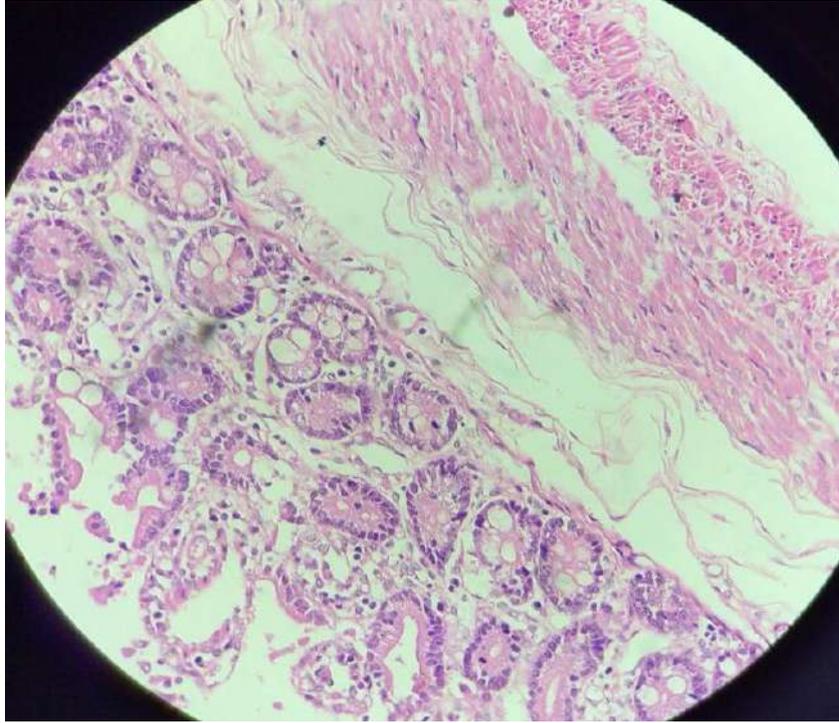
B5. Reconocimiento de la morfología en la muestra 13



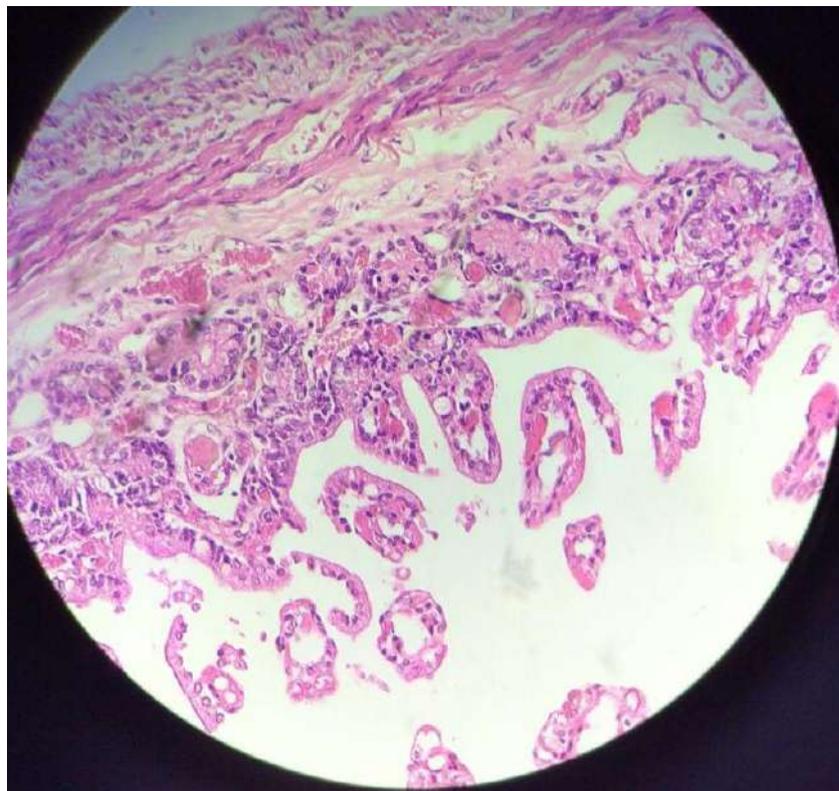
B6. Reconocimiento de la morfología en la muestra 14



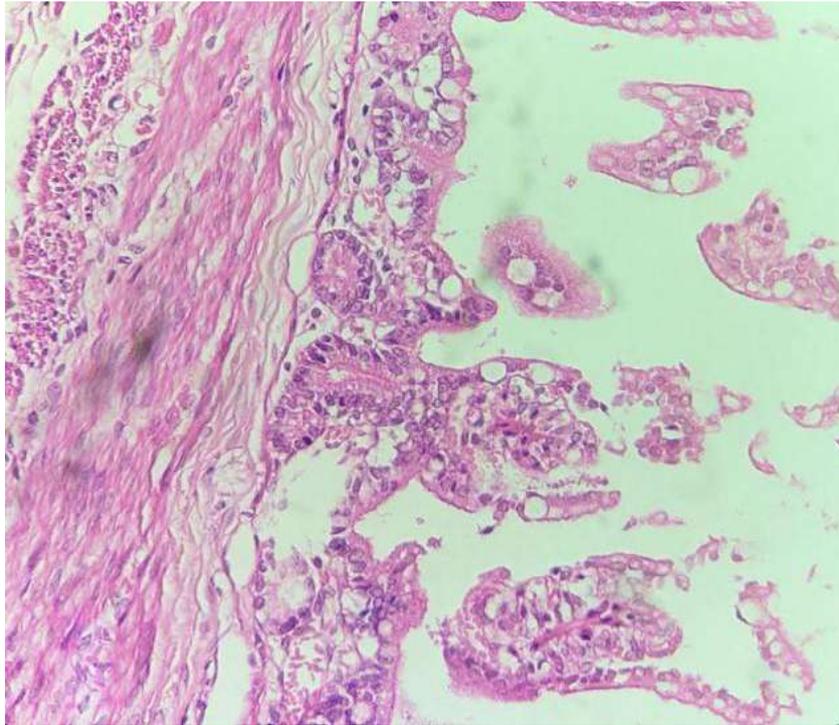
B7. Reconocimiento de la morfología en la muestra 15



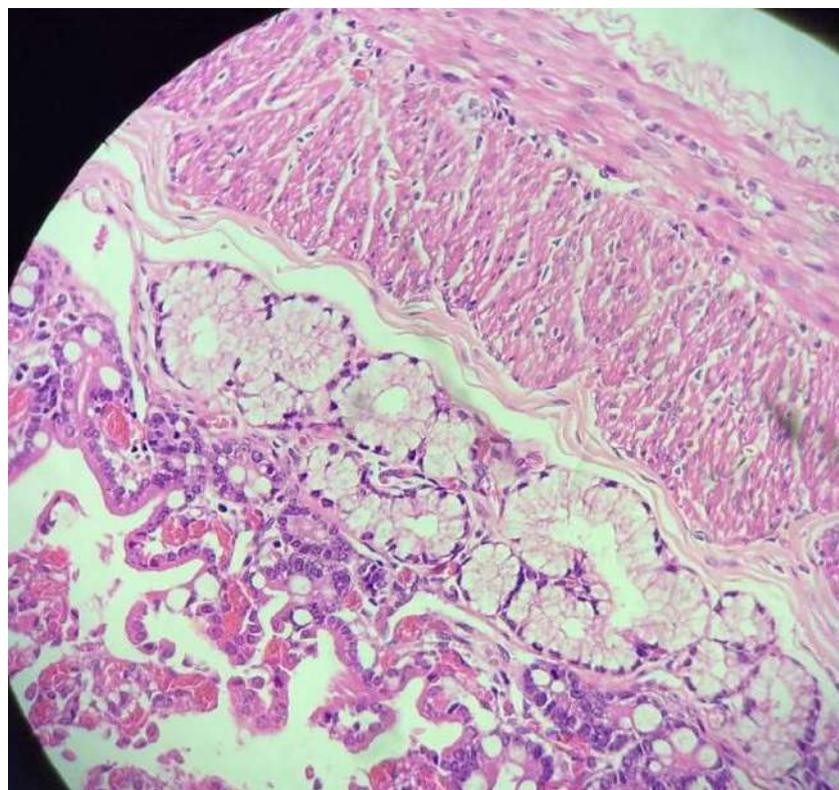
B8. Reconocimiento de la morfología en la muestra 16



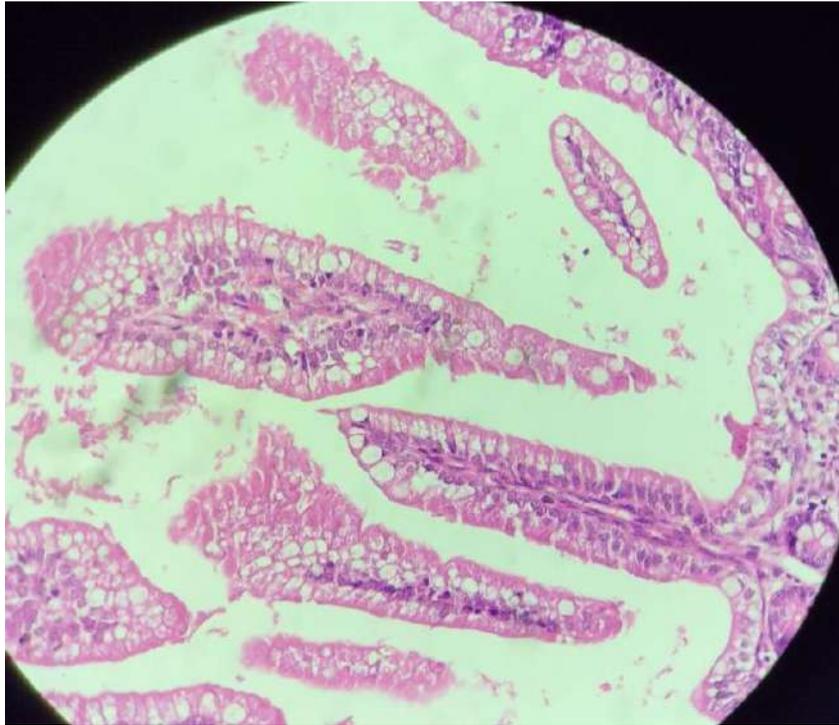
C1. Reconocimiento de la morfología en la muestra 17



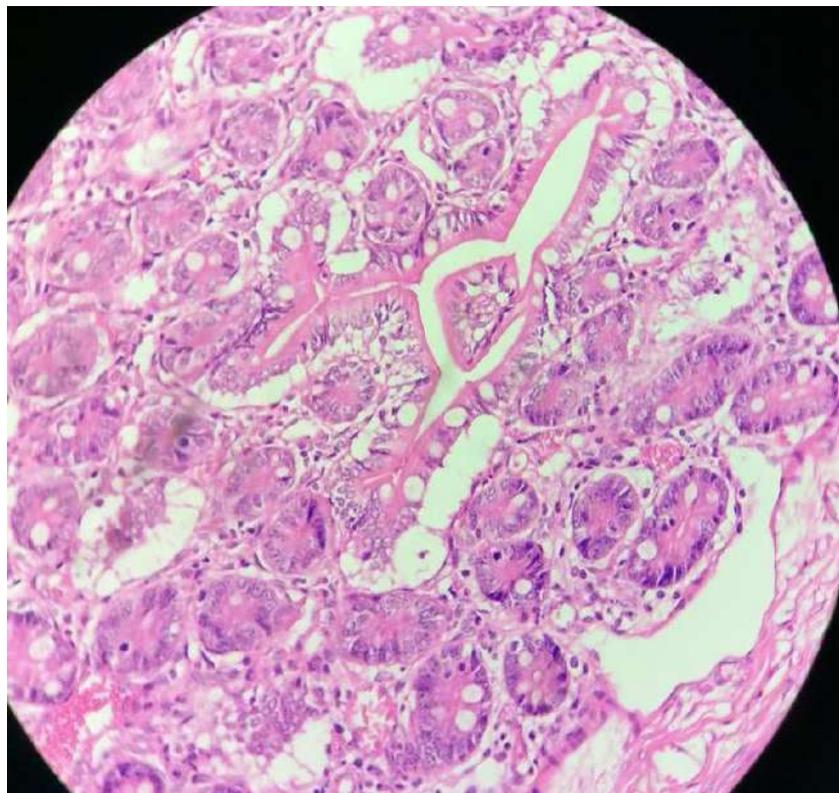
C2. Reconocimiento de la morfología en la muestra 18



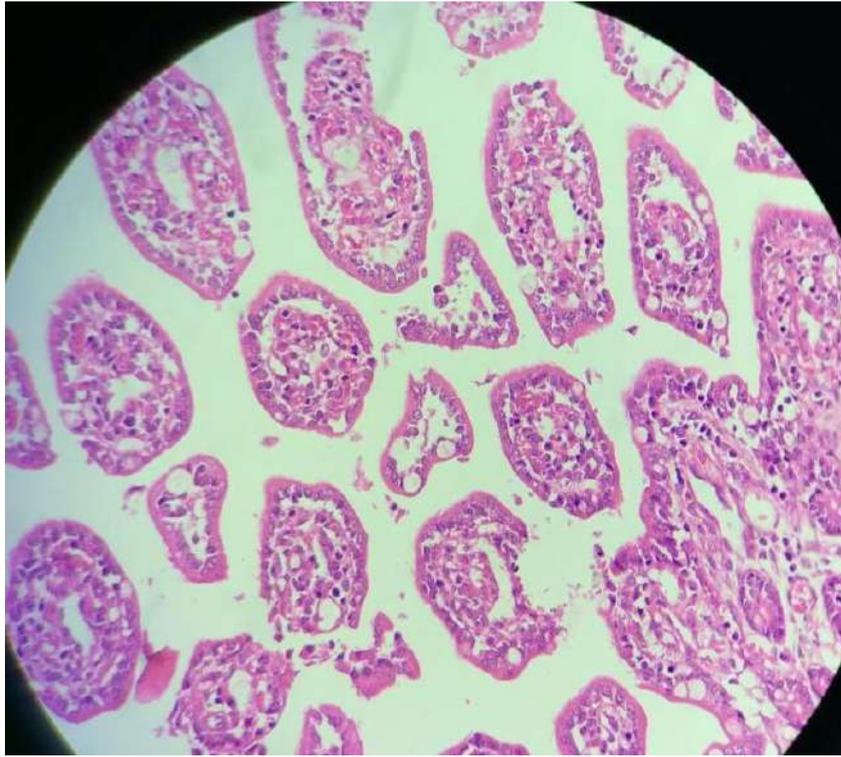
C3. Reconocimiento de la morfología en la muestra 19



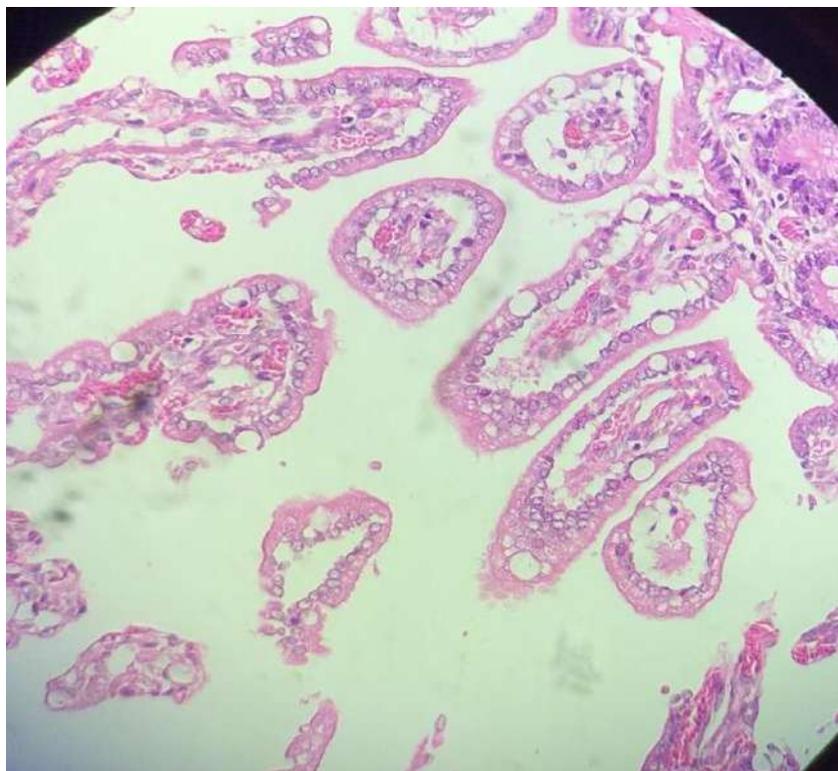
C4. Reconocimiento de la morfología en la muestra 20



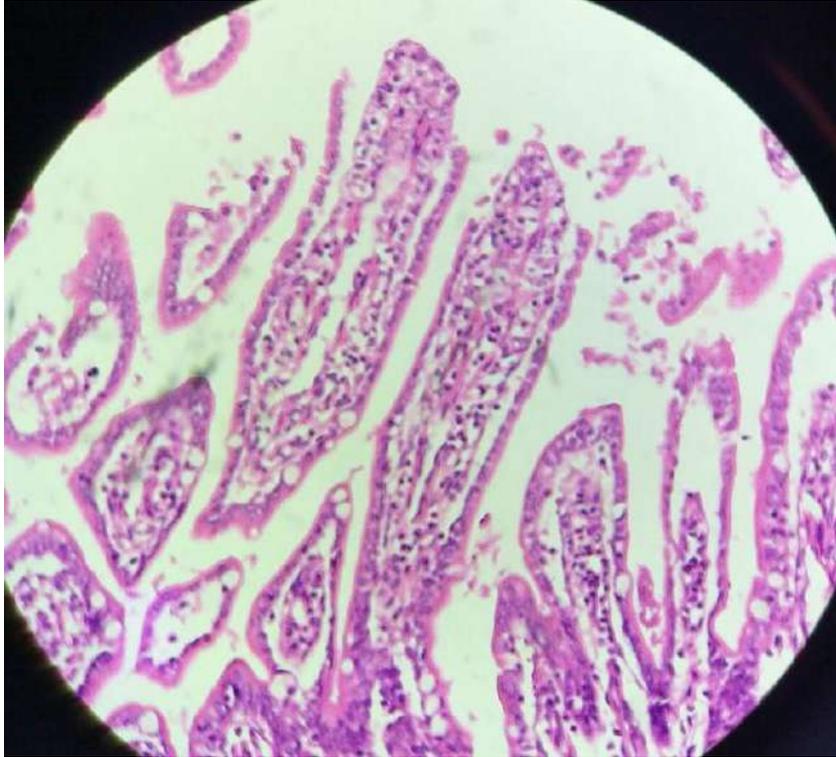
C5. Reconocimiento de la morfología en la muestra 21



C6. Reconocimiento de la morfología en la muestra 22



C7. Reconocimiento de la morfología en la muestra 23



C8. Reconocimiento de la morfología en la muestra 24