

Tecnología IgY para el control de enfermedades infecciosas como la caries dental

Ana María Duque Restrepo*, Laura Marcela Hernández Castillo*
Cecilia María Martínez Delgado**

* Estudiantes IX semestre, Facultad de Odontología, Universidad CES.

** Docente universidad de Antioquia y Facultad de Odontología Universidad CES

Dirección de contacto: ana-maria193@hotmail.com

REVISIÓN DE TEMA

Resumen:

Debido a la distancia filogenética entre aves y mamíferos, las aves han sido una alternativa al uso de anticuerpos mamíferos para la prevención de enfermedades, a partir de la producción de inmunoglobulinas provenientes del huevo (IgY) mediante la inoculación de diferentes virus y bacterias, desencadenando la formación de anticuerpos específicos utilizados en diferentes áreas como la medicina veterinaria y la humana. La IgY, a diferencia de los antibióticos, no induce el desarrollo de resistencia bacteriana y preserva inalterada la flora normal, debido a que estos anticuerpos actúan *in situ* mediante una administración no traumática como es la vía oral. Igualmente, teniendo en cuenta que dicha inmunoglobulina puede estar en la dieta normal porque se encuentra presente de forma natural en los huevos, no existe peligro de complicaciones alérgicas, convirtiéndose en una estrategia económica de impacto en la salud, al disminuir la incidencia, prevalencia y severidad de varias enfermedades tanto en animales como en humanos. La administración de IgY no induce el desarrollo de resistencia bacteriana y preserva inalterada la flora normal, por lo cual puede ser suministrada conjuntamente con otros productos de bacterias beneficiosas, presentándose como una interesante alternativa al uso de antibióticos para la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades infecciosas y en la terapia o profilaxis de diversas enfermedades.

Palabras Clave: Inmunidad, inmunidad aviar, inmunoglobulina humana, inmunización pasiva

Abstract:

Due to the phylogenetic distance between birds and mammals, the former have been an alternative to mammalian antibodies in the prevention of diseases, from the immunoglobulin production from an egg (IgY) by inoculation of different viruses and bacteria, triggering the formation of specific antibodies used in different areas such as veterinarian and human medicine. Unlike antibiotics, IgY does not bring the development of bacterial resistance and preserves the normal flora intact, because these antibodies act *in situ* via a non-traumatic, oral administration. Also, considering that the aforementioned immunoglobulin may be included in a normal diet because it is naturally present on eggs,

there is no risk of allergic complications, becoming an economic strategy of health impact by reducing the incidence, prevalence and severity of various diseases in both, animals and humans. IgY administration does not induce the development of bacterial resistance and preserves the normal flora intact; therefore, it may be supplied together with other useful bacterial features, appearing as an interesting alternative to antibiotics for the prevention and treatment of certain infectious diseases and in the therapy or prophylaxis of several diseases.

Key words: Immunity, Aviar immunity, Passive immunity, Immunoglobuline

INTRODUCCION

La tecnología IgY (inmunoglobulina Y) fue descrita por primera vez por Kemplerer en el año 1893, cuando observó que si se inoculaban ratones con cultivos inactivados de *Clostridium tetani* extraídos de yema de huevo, se confería inmunidad frente a dicha bacteria (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**).(1) Ya muy avanzado el siglo XX, se retomó este conocimiento debido a los debates bioéticos por el uso de animales de laboratorio, principalmente por el sufrimiento que pueden tener, producto de investigaciones biomédicas. En 1999 la Oficina Veterinaria del gobierno suizo aprobó el uso de esta tecnología con fines profilácticos y terapéuticos.(2)

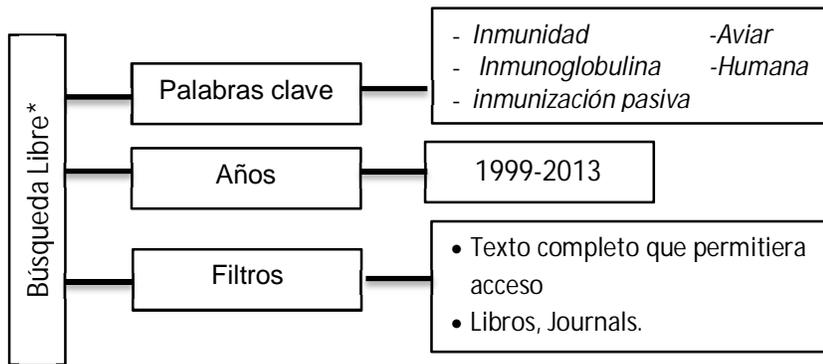
La IgY tiene aplicaciones terapéuticas y profilácticas tanto en animales como humanos. En éstos últimos ha resultado útil en el tratamiento o prevención de enfermedades intestinales (Losch et al., 1986 ; Akita y Nakai , 1992)(3), tales como infecciones por *Helicobacter Piloni*, *Echerichia Coli*, *Salmonella* entérica entre otras; logrando una inmunización pasiva mediante la incorporación de IgY en los alimentos (3,4). Ha resultado ser un método favorable respecto al tratamiento convencional de éstas enfermedades, que consiste en manejo antibiótico que puede generar resistencia al medicamento.(4,5)

Esta investigación pretende hacer una revisión de literatura respecto a los usos y aplicaciones de la tecnología IgY.

2. MÉTODO

Búsqueda libre en libros, revistas indexadas (cualquier tipo de estudio) en las siguientes bases de datos: PubMed, Clinical Key, BIREME. En el siguiente diagrama se ilustra los criterios de búsqueda:

Figura 1. Criterios de búsqueda y selección de la bibliografía



*Se excluyeron solo los artículos a los que no se tuvo acceso en texto completo.

Propiedades y Componentes del huevo

El huevo es la célula más grande originada por división celular, el cual posee nutrientes (proteínas, lípidos y enzimas), factores de crecimiento promotores del desarrollo embrionario y factores de defensa contra infecciones de origen bacteriano y viral.(6,7) La yema está rodeada por la clara, la cual a su vez es envuelta por membranas de la cáscara.(8)

Los principales componentes del huevo son 12% lípidos, 12% proteínas y 75% agua. Del contenido total, la yema constituye el 28-29%; en ella se encuentra el 44% de las proteínas totales. Los lípidos son exclusivos de la yema, principalmente encontrados en forma de lipoproteínas. (6)

Componentes de la yema:

La yema contiene diferentes partículas suspendidas en una solución proteínica y rodeada por una membrana vitelínica (la cual presenta una fuerza de ruptura mayor en aves jóvenes) ; está dividida en yema blanca y yema amarilla, siendo ésta última el principal constituyente, conformada por capas y que contiene dos tipos de emulsiones lipoproteínicas: de alta y baja densidad. Entre éstas partículas se encuentran esferas de yema que contienen granulos con electrones de alta densidad, cuya distribución y forma varían entre capas (3,8). Puede ser considerada una emulsión debido a su composición, constituida por alrededor de 51,3 % de materia seca (la cual a su vez posee 16,6% de proteínas; 32,6% grasas y otros lípidos; 1 % hidratos de carbono y 1,1% materia inorgánica) y 48,1 % de agua (Siewert & Broch, 1972; Romanoff & Romanoff, 1949)(9)

En la porción acuosa se ubican las proteínas y carbohidratos, mientras que los lípidos se encuentran dispersos en la misma, formando los llamados gránulos de

la yema y gotas lipídicas. Las proteínas presentes en la yema de huevo pueden dividirse en cuatro fracciones. Fracción vitelínica ó lipovitelínica (47,5%) formada principalmente por fosfo-núcleo-albúmina (400 kDa); Fracción vitelelínica (38,6%); fracción fosfovítínica (4,3%), compuesta por una proteína con alto contenido de fósforo (36 kDa); y una fracción livetínica (9,6%) donde se encuentran las proteínas solubles. Esta última fracción es muy heterogénea, conteniendo alrededor de diez tipos de proteínas diferentes (Mehner & Hartfield, 1983). La IgY se encuentra, entonces, dentro de esta última fracción.(9)

Un huevo contiene 6g de proteínas distribuidas entre la yema y la clara, la primera contiene proteínas como transtiretina, vitelogenina, apoproteína B e inmunoglobulinas (constituyen aproximadamente 200mg en la yema). La IgA e IgG humanas comparten un diseño que permite su transporte y absorción a la yema, permitiendo que las células B de gallinas transgénicas puedan producirlas; mediante estudios realizados en ratones se han producido Ac humanos con secuencias de codificación transgénica de las cadenas pesada y ligera de genes de inmunoglobulina humana, sugiriendo que éste principio puede ser aplicado para producir anticuerpos policlonales humanos en yema de gallina.(8)

Inmunidad en aves

El sistema de defensa en aves y vertebrados se divide en innato o no adaptativo, y adquirido o adaptativo y específico; éste último presenta una rama celular (linfocitos T y B) y otra humoral. Presentan órganos primarios (Bolsa de fabricius y timo, cuyas células madre se originan en la médula ósea) y secundarios (bazo, glándula de Harder, nódulos linfáticos, médula ósea y tejido linfoide del tracto alimentario). En la bolsa las células madres se diferencian en células B, mientras que en el timo se diferencian en células T. En el bazo proliferan las células plasmáticas y es el lugar donde se localizan las células B de memoria. En las aves existen tres tipos de inmunoglobulinas, análogas a las mamíferas (IgA, IgM e IgY).(1) La IgA y la IgM son inmonoglobulinas séricas que se encuentran principalmente en la clara , mientras que la IgY es la inmunoglobulina de la yema.(3) Las aves también poseen células presentadoras de antígenos, y mecanismos funcionales que son regulados por las interleuquinas.(9,10)

Funciones de las inmunoglobulinas

La misión principal de las inmunoglobulinas consiste en la eliminación de los agentes extraños extracelulares, esto se realiza directamente a través de la neutralización o indirectamente señalizando lo agentes extraños para que sean reconocidos por otros elementos de la respuesta inmune. (11)

- **Neutralización:** Neutralizar capacidad infecciosa o efectos tóxicos.

- **Opsonización:** los agentes extraños recubiertos por inmunoglobulinas son reconocidos por receptores de inmunoglobulina situados en la superficie de los macrófagos
- Pueden llevar a cabo la destrucción de antígenos (activación del complemento)
- Unión de las inmunoglobulinas a receptores específicos localizados en la superficie de diversas células (NK, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos , linfocitos B) lo que las convierte en citotóxicas por que pueden destruir diferentes células blanco.(11)

Se deriva en primer lugar por la variabilidad de las cadenas ligeras y pesadas, debido al alto número de segmentos V, las diversas regiones J y D y a las múltiples formas de combinación V(D)J.(11) Las inmunoglobulinas poseen diferentes variantes (clases, alotipos e idiotipos), Las diferentes clases de inmunoglobulinas se conocen como isotipos, definidos según el tipo o naturaleza de las cadenas pesadas que las componen y están involucradas en su formación (cadenas gamma-IgG, mu-IgM, etc.); éstas también se subdividen en clases y subclases que constituyen el isotipo (dentro de una misma clase pueden establecerse variaciones menores en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes de las cadenas pesadas lo que define la aparición de subclases: IgG1, IgG 2 etc).Los animales poseen todas éstas subclases pero varían en número y propiedades según la especie.(11,12)

Alotipos: Son las variantes estructurales hereditarias o diferencias entre las inmunoglobulinas de individuos de la misma especie (7), consiste en variaciones individuales en la secuencia de aminoácidos con cambios en un número muy restringido de ellos.(11)

Idiotipos: Son cambios en las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas. Algunos idiotipos están dentro del sitio captador de antígeno y otros en las regiones de unión no antigénicas del dominio V.(12)

Normalmente, las inmunoglobulinas están compuestas por 4 cadenas polipeptídicas unidas por enlaces covalentes de disulfuro. Las 2 cadenas livianas son iguales a las que tienen otros isotipos, las 2 pesadas con 4 dominios constantes tienen particularidades que le dan al anticuerpo la capacidad de unirse a sus receptores en las células.(13) La depresión formada entre las dos regiones globulares Fab (cada una conformada por una cadena ligera y una pesada, que a su vez poseen un dominio constante y otro variable que interactúan entre sí) es revestida por péptidos de las CDR; los CDR de cada Fab (sitio de unión

antigénica) son iguales, permitiendo que las inmunoglobulinas formen enlaces cruzados con dos antígenos simultáneamente.(12)

A pesar de las semejanzas que hay entre los mamíferos y gallinas, estas últimas presentan una diferencia muy importante en cuanto a la transferencia de la inmunidad pasiva a los descendientes: En aves, cuando el huevo se encuentra en el ovario la gallina transfiere sus inmunoglobulinas Y (IgY) séricas a la yema, las cuales son transmitidas a través de los componentes fluidos del huevo durante el desarrollo embrionario tardío, desembocando al torrente sanguíneo mediante empaquetamiento y transporte a través de la yema y su saco membranoso; con el fin de darle inmunidad adquirida al pollito. Por el contrario, los mamíferos hacen su transferencia a través de la placenta.(6,9,14)

Inmunoglobulina Y (IgY)

La IgY es la principal inmunoglobulina sérica de las aves sin ser la única(15), tiene un peso molecular de 180kDa y está conformada por dos cadenas livianas (L) y dos cadenas pesadas (H), en comparación con las inmunoglobulinas mamíferas, que se encuentran unidas mediante puentes de disulfuro. La molécula se compone de una región o dominio constante (CL) y otra variable (VL) que le confiere especificidad en la unión con diferentes antígenos. las diferencias con la IgG mamífera se dan tanto a nivel de la cadena pesada como de la liviana. Las fuerzas intramoleculares en la IgY son mas débiles respecto a la IgG mamífera ya que a diferencia de ésta ultima no presenta unión disulfuro entre los dominios VL y CL de la cadena liviana (Shimizu et al. 1993); la cadena pesada de la IgY tiene un dominio variable (VH), y un dominio constante adicional (CH4) (para un total de cuatro dominios constantes) a diferencia de la IgG que consta de tres únicamente (CH1, CH2, CH3); sin embargo éstos dominios C no son equivalentes entre una y otra inmunoglobulina según su secuencia.(2,9,16). La cadena liviana consta de un dominio variable y otro dominio constante.(2)

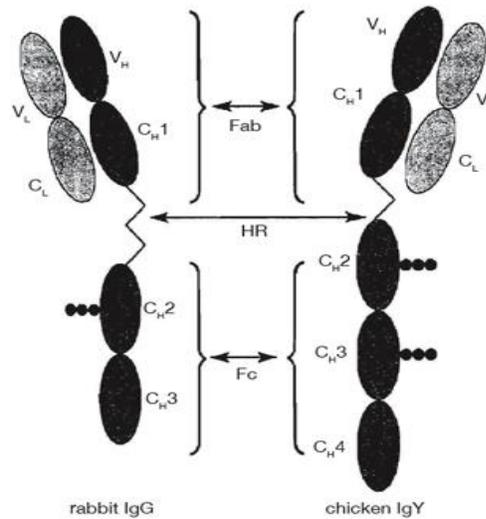


Fig 1. Comparación de la estructura molecular de igY de gallina e IgG de conejo.(7,16)

V: dominio variable de la cadena ligera (VL) y de la cadena pesada (VH); C: dominio constante de la cadena ligera (CL) y de la cadena pesada (CH); HR: región bisagra, los puntos negros simbolizan las cadenas de carbohidratos; Fab: Fragmento de Unión al Antígeno; Fc: Región cristalizante (constante) de la molécula de anticuerpo.
Imagen tomada de Chavez Alvarado(6) y Chalghoumi y cols(14)

Está presente en aves y reptiles, y es el equivalente de la IgG, el mayor anticuerpo sérico en mamíferos (lo cual le confiere más importancia funcional entre los mecanismos de defensa mediados por anticuerpos); sin embargo difieren en diversos aspectos funcionales y estructurales aunque tienen la misma concentración sérica. La IgG es producida por plasmocitos del bazo, ganglios linfáticos y médula ósea; es la inmunoglobulina de menor tamaño lo cual favorece su paso a través de los vasos sanguíneos (importante en la inflamación), se concentra principalmente en el suero de los animales y en otros fluidos como la saliva o la leche, predomina en respuestas secundarias (ya que en las primarias, la IgM se produce en mayor cantidad), pesa 180kDa y se adhiere fácilmente a antígenos extraños.(11,12,15,16)

La IgY de aves y la IgG mamífera presentan semejanzas en su función y concentración, sin embargo presentan diferencias estructurales significativas, entre las cuales se incluye el reconocimiento del antígeno por el epítipo debido a la reducida flexibilidad de la molécula Fab de la IgY. Otra diferencia estructural se presenta en el Fc de la IgY que contiene dos cadenas laterales de carbohidratos, en lugar de una como ocurre en la IgG; además éste fragmento es mayor, y la molécula IgY es más hidrofóbica. La IgY en comparación con la IgG, puede mediar reacciones anafilácticas-(2)

Transferencia de la IgY al huevo

Según investigaciones encontradas, la transferencia de la IgY al huevo ocurre en los folículos ováricos(17) y este paso a través de ellos tarda aproximadamente cinco días. Los anticuerpos son transportados a la yema entre 5-6 días o de 3-4 días (5) y la cantidad transferida parece ser independiente del tamaño del huevo.(2) Klemperer demostró en 1893 que hay transferencia de anticuerpos específicos a la yema cuando las gallinas son inmunizadas, posteriormente diferentes autores hablaron de inmunizaciones con otros antígenos y la transferencia de los respectivos anticuerpos a la yema de huevo.(2,17)

En las membranas de los ovocitos de las de las gallinas existen receptores específicos que captan activamente las IgY presentes en el suero (9) por tanto la IgY se transfiere a la yema por un proceso mediado por receptores, y la cantidad depende de la concentración sérica (2). En la yema del huevo, la concentración de IgY alcanza niveles similares a los del suero (6 a 13 mg/mL). Por otro lado no ocurre lo mismo con la IgM e IgA, ya que estas sólo se encuentran trazas en la yema, es por esto que el contenido de inmunoglobulinas en la yema del huevo corresponde casi exclusivamente a IgY.(9) la IgM e IgA son llevadas o agregadas a la clara al pasar el huevo por el oviducto (a través de las secreciones de éste conducto) y transferidas al canal embrional, mientras que la IgY circula en la sangre hacia el endodermo del saco de yema. Durante el desarrollo embrional, el pollo absorbe parte de la inmunoglobulina de yema, la cual pasa a su circulación; mientras que la IgM e IgA maternas se difunden en el líquido amniótico y son deglutidas.(13,16)

La IgY sérica es transferida a la yema cuando el huevo aun está en el ovario(13). Se cree que la transferencia ovárica de las IgY al huevo demanda alrededor de 5 días (Patterson et al, 1962), tomando en cuenta este desfase en el tiempo en cuanto al título de una IgY específica, existe una importante correlación positiva entre los títulos séricos y los presentes en la yema (Erhard et al, 1997).(9) La concentración total de IgY es aproximadamente 100-200mg por huevo.(2)

Una vez pasadas las 24 horas del nacimiento, el pollo recién nacido absorbe el anticuerpo del saco vitelino hasta que desaparece entre 10 y 20 días después.(13)

Mantenimiento de las aves y su relación con la concentración de anticuerpos en la yema:

Se han realizado algunos estudios acerca de la influencia que tiene el lugar o la manera de conservación de las gallinas con la concentración de anticuerpos en las gallinas inmunizadas. Erhard et al comparó gallinas preservadas en el campo y gallinas preservadas en jaulas en el laboratorio,

dando como resultado una mayor concentración de títulos de anticuerpos en éstas últimas; sin embargo aún hacen falta más estudios que soporten el hecho de que un método de manutención sea superior. Las condiciones en que se mantienen las gallinas afectan la posibilidad del estado de higiene y el comportamiento de las aves. (2,18)

Las condiciones en que se mantienen deben permitirles a las aves tener un comportamiento normal, típico de su especie.(2) Las jaulas son muy usadas en EEUU ya que aíslan las aves y las protegen más de las enfermedades, sin embargo la mayor desventaja de las jaulas tradicionales es que las gallinas no expresan comportamientos normales. Por otro lado, Las gallinas de campo que permanecen en albergues tienen la oportunidad de estar expuestas a una variedad de estímulos, y su comportamiento es más favorable pero son más susceptibles al clima lo cual resulta en poner menor cantidad de huevos.(19)

La salud y el bienestar animal han sido mejorados en pro del desarrollo de vacunas, ya que se ha descubierto que el estudio del comportamiento y el bienestar animal tienen influencia en la salud y bienestar de las gallinas ponedoras, lo cual puede incidir en la cantidad de huevos puestos y la concentración de anticuerpos en yema.(19)

Inmunoterapia:

Inmunidad se refiere a la observación muy antigua de que los individuos que han sufrido ciertas enfermedades transmisibles están exentos de volver a padecerlas(20) en otras palabras describe el estado del organismo de tener suficientes defensas biológicas para evitar la infección, enfermedad u otra invasión biológica no deseada. La inmunidad se puede dividir en: activa natural, producida por la infección activa artificial, producida por la vacunación pasiva natural que es el paso transplacentario de anticuerpos de la madre al niño y la inmunidad pasiva artificial, que es producida por la transmisión de gammaglobulinas.(20)

Hacen parte de ella los avances científicos que se han logrado respecto a la manipulación del sistema inmune según las necesidades terapéuticas(13,21), tanto para la defensa contra determinados microorganismos como el control de hiper-respuestas manifestadas en las enfermedades autoinmunes o la disminución de su actividad para proteger los órganos trasplantados.

La ciencia actual ha permitido reemplazar algunos de los componentes del sistema inmune (en caso de falla o ausencia), disminuir su respuesta a través de métodos farmacológicos y biológicos; y modular o potenciar la capacidad de respuesta frente a diferentes antígenos, especialmente los de origen microbiano.(13)

La terapia con anticuerpos también hace parte de la inmunoterapia, se emplean inmunoglobulinas de origen heterólogo y homólogo. Las primeras provienen de una especie diferente al receptor (como sueros de origen animal); los anticuerpos obtenidos se usan para realizar profilaxis y/o tratamiento de algunas enfermedades; las segundas (de origen homólogo) son derivados de sangre humana como suero, plasma o Ig totales, útiles en el tratamiento de enfermedades infecciosas, alteraciones inmunes o inflamatorias.(13)

Vacunación

La Organización Mundial de la Salud nos dice que con la única excepción de la depuración del agua, nada ha tenido mayor impacto en reducir la mortalidad que las vacunas"(20). Existen dos métodos de inmunización animal: inmunización activa y pasiva. A los animales se les puede proteger exponiéndolos a antígenos de un agente infeccioso para estimular una respuesta inmune protectora (inmunización activa: sus sistema elabora células de defensa específica) o se les administra un anticuerpo preformado que se haya obtenido de algún sujeto inmune (inmunización pasiva: transferencia de anticuerpos de un sujeto resistente a uno susceptible, un animal donador produce los anticuerpos a través de inmunización activa.

Los antisueros se obtienen mediante una serie de inoculaciones inmunizantes.(12,13) La inmunización pasiva brinda resistencia inmediata pero temporal, susceptible a reinfección (se desvanece debido al catabolismo gradual de los anticuerpos) mientras que la inmunización activa ofrece mayores ventajas al tener larga duración y admitir re-estimulaciones, sin embargo la respuesta inmune no es inmediata sino secundaria, dado que se presenta ante la re-inmunización o exposición a la infección.(12)

La inmunización que se requiere para realizar este trabajo investigativo es de carácter pasivo, mediante la inoculación de gallinas con un antígeno de *Streptococo mutans* buscando obtener IgY de gallina contra esta bacteria, que posiblemente pueda ser aplicada en humanos. En veterinaria, el método de inmunización pasiva requiere vigilar la respuesta de los animales sometiéndolos a sangría cuando sus títulos de anticuerpos sean lo suficientemente altos, se realiza por intervalos regulares hasta que descendan para que el animal pueda ser nuevamente estimulado con el antígeno. se separa el plasma de la sangre y la fracción de globulina con los anticuerpos concentrados, es titulada y administrada.(12)

Las vacunas pueden ser de dos tipos: las vacunas replicativas contienen microorganismos vivos que inducen mejor la inmunidad y se multiplican al ser

aplicadas, las no replicativas constan de microorganismos inactivados, muertos o productos derivados de ellos (requieren adyuvantes pero pueden aplicarse en pacientes con inmunodeficiencia sin riesgo de complicaciones, a diferencia de las replicativas); dentro de éstos se encuentran los anticuerpos anti-idiotipos, anticuerpo producido en la inmunización pasiva por el individuo que fue previamente inmunizado contra un antígeno específico. El individuo que recibe los anticuerpos anti-idiotipos produce también anticuerpos cuya región variable es similar a la del anti-idiotipo. Estos segundos anticuerpos son una réplica estructural del determinante antigénico y por tanto pueden usarse como vacuna.(13)

Antes de optar por una vacuna, deben considerarse dos criterios: demostrar que una respuesta inmunitaria protegerá contra la enfermedad y tener la certeza de que los riesgos de su uso no superan los de contraer la propia enfermedad.(12)

En 2005, Rüdiger Schade *et al* (2) sostuvieron que existen al menos 4 variables que afectan la respuesta inmune de las gallinas inmunizadas:

-La dosis del antígeno: se encontró que se obtuvieron mejores resultados cuando las concentraciones eran bajas (0,5mg o 1mg respecto a 2,5-5mg donde hubo una supresión en el desarrollo de los títulos de anticuerpos).(2)

- Uso de adyuvantes: Ayudan a estimular el sistema inmune, sin embargo la inmunización en la cual fueron excluidos, dio resultados aceptables. Deben considerarse los efectos secundarios sobre las aves, los cuales varían entre adyuvantes.(2)

- Modo de aplicación del antígeno: Comúnmente se usa intramuscular(I.M), la I.V solo debe usarse sin adyuvantes. La inyección IM combinada con una inyección I.V final, frecuentemente aumento de manera significativa los títulos de anticuerpos.(2)

- La gallina: condiciones de manutención, edad, crianza y su efecto en la capacidad ponedora.(2)

Existen otros factores que influyen en el éxito de la inmunización, entre ellas los intervalos entre las inmunizaciones (por lo menos 4 semanas entre la primera y la segunda, dando tiempo al desarrollo de la memoria inmunológica), el tipo de anticuerpo inyectado (puede disminuir la capacidad ponedora), entre otras. Los anticuerpos IgY aparecieron en el suero aproximadamente 4 días después de la inoculación, alcanzaron sus títulos máximos entre los días 6 y 8(2).

Usos Terapéuticos de la IgY:

Se han realizado varios trabajos relacionados con el uso de la IgY en técnicas inmunodiagnósticas como por ejemplo en bacterias, en detección de herbicidas en el agua y en detección de proteínas específicas en alimentos.(9)

Huevos o yemas enteras en polvo se han utilizado como una alternativa económica para el tratamiento con IgY de enfermedades entéricas en medicina veterinaria, el ejemplo más famoso de uso terapéutico y profiláctico de IgY es el tratamiento de terneros y lechones con ABS específicas contra Echerichia Coli (k88, k99,987p) rotavirus y coronavirus. (2)

La IgY ha sido estudiada como posible tratamiento profiláctico en diferentes casos y enfermedades tales como infecciones intestinales, entre las cuales se encuentran la diarrea inducida por rotavirus (estudio invivo mediante inoculación de porcinos)(22) infecciones EHEC (enterohemorrhagic Escherichia coli) inducidas por Shiga toxinas (stxs) (23) enfermedades virales como influenza (H5N1 y H1N1)(24) y caries dental. También se ha demostrado que puede lograrse la prevención y terapéutica de la úlcera gástrica mediante la administración de IgY específica contra Helicobacter pylori. El efecto de la IgY es la constante remoción de la bacteria, impidiendo entonces la colonización y posterior crecimiento del patógeno en el epitelio estomacal(9). La obtención de IgY específica se realizó a través de hiperinmunización de gallinas con el respectivo antígeno; según la enfermedad a tratar.(6,22,23)

Una IgY específica puede ser obtenida a través de la inmunización de las gallinas con diferentes proteínas(6),lo cual ha hecho posible su uso experimental en la búsqueda de desarrollar anticuerpos para la inmunoterapéutica de enfermedades en humanos y emplearla como resistencia contra microorganismos patógenos. También se ha descubierto que no existe una reacción inmunológica cruzada entre IgY de pollos e IgG de mamíferos(15) debido a la distancia filogenética entre ellos(7) (en las reacciones cruzadas los Ac dirigidos contra una proteína en una especie pueden reaccionar de manera detectable con la proteína homóloga o similar en otra especie; también cuando los anticuerpos dirigidos contra un antígeno pueden reaccionar inesperadamente contra un antígeno no relacionado por tener epítopes similares(12), favoreciendo la acción de anticuerpos avícolas contra proteínas mamíferas.(15) Un ejemplo de ello es que la diferencia de la IgG, la IgY no produce reacciones cruzadas con los factores reumatoideos, pudiendo así minimizarse las falsas reacciones positivas cuando se evalúan marcadores de inflamación (proteína C-reactiva). Esta característica puede ser valiosa para el estudio y seguimiento de los procesos inflamatorios+(9)

Debido a las diferencias evolucionarias, los anticuerpos de pollo se unen a mayor cantidad de epítopes de proteínas mamíferas respecto a los correspondiente anticuerpos mamíferos(15), dando como resultado una mayor efectividad en comparación con éstos últimos y siendo una considerable alternativa que sugiere darles un mayor uso en área de la salud; debido a las ventajas que brinda frente a la posibilidad de dar solución a enfermedades gastrointestinales, infecciosas, etc. Anteriormente mencionadas, entre las cuales se encuentra también la caries dental. *Smith DJ et . al* realizaron un estudio experimental inoculando ratas con antígenos IgY contra Streptococo Mutans GBP-B y obtuvieron resultados exitosos inhibiendo la acumulación de la bacteria en el biofilm y brindando protección contra la caries dental.(25)

Por otro lado el sistema inmune de los pollos puede producir anticuerpos específicamente dirigidos contra antígenos mamíferos altamente conservados (que no sufrieron cambios sustanciales durante la filogenia). Haciendo posible que la IgY reconozca partes o fragmentos de una molécula que no son reconocidas por la IgG, lo cual puede tener importancia para la construcción de herramientas de diagnóstico.(9)

Otras ventajas se han encontrado respecto a preferencia del huevo y del pollo frente a otros animales para llevar al cabo los diferentes estudios:

- La extracción de IgY avial representa un bajo costo (Es más económica la producción de grandes cantidades de Ig-y respecto a las Ig-G mamíferas.), favoreciendo su uso en la elaboración de inmunoreactivos para el diagnóstico y permitiendo el uso de anticuerpos con fines profilácticos y terapéuticos.(7,9,24)
- Tiene una alta efectividad ya que la IgY de la yema de huevo es bien tolerada en humanos y ha sido usada por largo tiempo en tratamientos contra patógenos orales e intestinales sin efectos secundarios significativos, y ha demostrado efectos inhibitorios respecto a algunos virus.(24,26). Terzolo H.R et. al realizaron inoculaciones en gallinas y emplearon la IgY para identificar variedades séricas de salmonella entérica.(27)
- Estrategia que permite producir fácilmente enormes cantidades de anticuerpos protectores.(24)
- Permite una administración pasiva en humanos (oral e intranasal) (24) y con mayor posibilidad de aceptación por parte de la población ya que su consumo hace parte de la dieta normal de los individuos y por lo tanto, también los anticuerpos que naturalmente se encuentran en la yema del

huevo. Por esta razón, el concepto de consumir anticuerpos IgY puede ser fácilmente aceptado por la gente.(6,8) Puede ser usada de manera rápida y segura contra influenza pandémica.(24)

- Se han realizado algunos estudios clínicos que demuestran que la administración de IgY a pacientes humanos que padecen distintas infecciones bacterianas, puede reducir el grado de la enfermedad, Por ejemplo, la administración oral de IgY específica anti *Pseudomona aeruginosa* aumenta el tiempo que necesita la bacteria para colonizar el tracto intestinal y por lo tanto permite la disminución de la infección. De esta manera, el tratamiento con IgY específica se presenta como una alternativa ó complemento al uso de antibióticos, reduciendo la aparición de cepas resistentes.(9)
- Propiedades bioquímicas.(7)
- Aplicaciones en el campo de la medicina contra infecciones intestinales humanas, tratamiento antiviral en veterinaria, y uso prometedor en odontología.(3)
- Técnica poco invasiva que brinda cantidades mayores de Ig a las obtenidas en mamíferos, tanto en concentración por huevo (100mg de un solo huevo, según Akita et al., 1992) y considerando la cantidad de huevos que una gallina puede producir al mes (aproximadamente 20 huevos, 2g de anticuerpo), y preservando el bienestar animal al no requerir sangrar al ave o sacrificarla para lograr una completa extracción (lo cual si es necesario con otros animales), y haciendo posible la reducción en el número de animales necesarios para obtener una cantidad de anticuerpos determinada.(7,16) Klemperer en 1893 demostró que al inmunizar gallinas los anticuerpos específicos eran transferidos del suero a la yema.(16)

La protección animal es factor que necesariamente debe llevarse al cabo cuando se realizan estudios de laboratorio con animales. Existen diferentes guías que pueden ser consultadas (Guía de cuidado y uso de animales de laboratorio- Washington D.C 1996, Guías de tamaño de cajas y corrales para el mantenimiento de gallinas domésticas empleadas en experimentos- National office for Veterinary Medicine/Switzerland 1994, entre otras). Entre algunos de los factores a tener en cuenta como la disposición de un espacio adecuado y semejante a su entorno natural de manera que no afecte su comportamiento, contacto social manteniendo al menos 2 gallinas en un mismo sitio o donde puedan ver y escuchar a otras de su especie. Si se van a inmunizar las gallinas de una manera diferente se pueden

distinguir empleando razas con diferentes colores, en algunas los tonos de los huevos son distintos y fáciles de distinguir.(18)

CONCLUSIONES

Desde el punto de vista del bienestar animal, el uso de la tecnología IgY permite la reducción de efectos colaterales relacionados con la práctica de sangrado, debido a que los anticuerpos de gallina se pueden obtener con facilidad mediante un método no invasor, como es la recolección de huevos.

En las gallinas se puede obtener una buena cantidad de anticuerpos que multiplica la cifra que podría alcanzarse si se hubiera inmunizado de manera idéntica, por ejemplo a un conejo. Por lo tanto, la utilización de gallinas como fuente de anticuerpos, permite contar con un animal relativamente pequeño capaz de producir una cantidad de anticuerpos, mejor a la obtenida a partir de un animal grande, siendo entonces el costo efectividad y la producción de IgY en grandes cantidades una de sus más valiosas ventajas.

Al permanecer el animal vivo durante un largo período de vida, debido a que no se requiere su sacrificio para la obtención de suero sanguíneo, es posible realizar más inoculaciones y paulatinamente mejorar la calidad y especificidad del anticuerpo que se busca. Estos hechos sumados al desarrollo de líneas genéticas de gallinas ponedoras capaces de producir más de 300 huevos al año, hacen que la utilización de estos animales haya atraído considerablemente la atención como una fuente alternativa de anticuerpos.

Esta gran cantidad de anticuerpos disponibles, abre la puerta para la utilización de las IgY en diversos campos de aplicación como la inmunoterapia y la inmunopprofilaxis de infecciones virales y bacterianas, tanto en medicina humana como veterinaria.

Existen múltiples ejemplos de la eficacia que presenta la utilización de productos basados en IgY específicas contra diversos agentes. Entre ellos se puede mencionar la inhibición de la adhesión de *Salmonella spp.* a las células del epitelio gastrointestinal; la disminución de la adherencia al epitelio gástrico e incluso de las lesiones producidas en la mucosa debidas a la presencia de *H. pylori*; la efectiva protección local contra la formación de caries producidas por *Streptococcus mutans*; la prevención o control de las infecciones intestinales causadas por *E. coli* en cerdos³⁴ y por rotavirus en terneros, entre otros.

La administración de IgY no induce el desarrollo de resistencia bacteriana y preserva inalterada la flora normal, por lo cual puede ser suministrada conjuntamente con productos de bacterias beneficiosas, presentándose como una interesante alternativa al uso de antibióticos para la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades infecciosas y en la terapia o profilaxis de diversas enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chacana P, Terzolo H, Calzado E, Schade R. Tecnología IgY, aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina: biología, propiedades y su aplicación en medicina y veterinaria. *Revista Médica Veterinaria*. 2004;85.
2. Schade R, Calzado EG, Sarmiento R, Chacana PA, Porankiewicz-Asplund J, Terzolo HR. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): a review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. *Altern Lab Anim ATLA*. abril de 2005;33(2):129-54.
3. De Meulenaer B, Huyghebaert A. Isolation and Purification of Chicken Egg Yolk Immunoglobulins: A Review. julio de 2001;
4. Shin J-H, Yang M, Nam SW, Kim JT, Myung NH, Bang W-G, et al. Use of egg yolk-derived immunoglobulin as an alternative to antibiotic treatment for control of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. septiembre de 2002;9(5):1061-6.
5. Gutiérrez Calzado E, Cruz Mario E, Samón Chávez T, Vázquez Luna E, Corona Ochoa Z, Schade R. Extraction of a monospecific Coombs-reagent from chicken eggs. *ALTEX*. 2003;20(1):21-5.
6. Mine Y. Egg proteins and peptides in human health--chemistry, bioactivity and production. *Curr Pharm Des*. 2007;13(9):875-84.
7. Edith Rosario Chavez Alvarado. Adherencia del *Streptococcus mutans* después del uso de la IgY extraído de la yema de huevo de gallinas hiperinmunizadas [Internet]. [Lima . Perú]: UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS; 2009. Recuperado a partir de: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:BP1gOXoqnVUJ:www.cop.org.pe/bib/tesis/EDITHROSARIOCHAVEZALVARADO.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=co>
8. Mine Y, editor. *Egg bioscience and biotechnology*. Hoboken, N.J: Wiley-Interscience; 2007.
9. Chacana LPA, Terzolo R DH. Una introducción a la tecnología IgY, anticuerpos de yema de huevo. [Estación Experimental Balcarce]: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; 2003.

10. Davison TF. The immunologists debt to the chicken. *Br Poult Sci.* marzo de 2003;44(1):6-21.
11. Gómez-Lucía y Duato ME, Blanco M del M, Domènech A. *Manual de inmunología veterinaria.* Madrid, España: Pearson Prentice Hall; 2007.
12. Tizard I, Cortés Pérez SA. *Inmunología veterinaria.* 5ta ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 1998.
13. Rugeles Lopez MT, Patiño Grajales PJ. *Inmunología: una ciencia activa.* Medellín: Biogenesis; 2004.
14. He Y, Bjorkman PJ. Structure of FcRY, an avian immunoglobulin receptor related to mammalian mannose receptors, and its complex with IgY. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 26 de julio de 2011;108(30):12431-6.
15. Carlander D, Stålberg J, Larsson A. Chicken antibodies: a clinical chemistry perspective. *Ups J Med Sci.* 1999;104(3):179-89.
16. Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review.
17. Yamamoto T, editor. *Hen eggs: their basic and applied science.* Boca Raton: CRC Press; 1997. 204 p.
18. Schade R. Chicken egg yolk antibodies, production and application: IgY-technology [Internet]. 2001 [citado 15 de octubre de 2015]. 9-16 p. Recuperado a partir de: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-04488-9>
19. Hester PY. Impact of science and management on the welfare of egg laying strains of hens. *Poult Sci.* mayo de 2005;84(5):687-96.
20. Verne Martin E. Conceptos importantes sobre inmunizaciones. *Acta Médica Peruana, Colegio Médico del Perú.* abril de 2007;24(Número 001).
21. Reilly RM, Domingo R, Sandhu J. Oral delivery of antibodies. Future pharmacokinetic trends. *Clin Pharmacokinet.* abril de 1997;32(4):313-23.
22. Vega CG, Bok M, Vlasova AN, Chattha KS, Fernández FM, Wigdorovitz A, et al. IgY antibodies protect against human Rotavirus induced diarrhea in the neonatal gnotobiotic piglet disease model. *PloS One.* 2012;7(8):e42788.
23. Neri P, Tokoro S, Kobayashi R, Sugiyama T, Umeda K, Shimizu T, et al. Specific egg yolk immunoglobulin as a new preventive approach for Shiga-toxin-mediated diseases. *PloS One.* 2011;6(10):e26526.

24. Wallach MG, Webby RJ, Islam F, Walkden-Brown S, Emmoth E, Feinstein R, et al. Cross-protection of chicken immunoglobulin Y antibodies against H5N1 and H1N1 viruses passively administered in mice. *Clin Vaccine Immunol* CVI. julio de 2011;18(7):1083-90.
25. Smith DJ, King WF, Godiska R. Passive transfer of immunoglobulin Y antibody to *Streptococcus mutans* glucan binding protein B can confer protection against experimental dental caries. *Infect Immun*. mayo de 2001;69(5):3135-42.
26. Sunwoo HH, Lee EN, Menninen K, Suresh MR, Sim JS (2002) Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on *Escherichia coli* 0157:H7. *J. Food Sci.* 67: 1486-1494.
27. Terzolo HR, Sandoval VE, Caffer MI, Terragno R, Alcain A (1998) Aglutinacion de inmunoglobulinas de yema de huevo de gallina (IgY) contra *Salmonella enterica* serovariedad enteritidis. *Rev. Arg. Microbiol.* 30: 84-92.