



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
ESCUELA DE POSGRADO

**ESTUDIO HISTOQUÍMICO E
INMUNOTIPIFICACIÓN DE
POBLACIONES
LEUCOCITARIAS DEL TIMO DE
ALPACAS (*Vicugna Pacos*)
MENORES A 60 DÍAS DE EDAD**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN MEDICINA DE
ANIMALES DE COMPAÑÍA**

RICARDO ENRIQUE GRANDEZ RODRÍGUEZ

LIMA – PERÚ

2017

Asesor de Tesis: Dr. Marcos Enrique Serrano Martínez

Dedicado a mis padres, hermanos y a mi abuelita, sin cuya ayuda no hubiera podido cumplir mis metas personales y profesionales que me permiten seguir desarrollándome como ser humano....

Tabla de Contenido

I.	Introducción	1
II.	Materiales y Métodos	10
III.	Resultados	15
IV.	Discusión	20
V.	Conclusiones	24
VI.	Literatura Citada	25
VII.	Anexos	33
VIII.	Glosario	34

Resumen

Se realizó eutanasia a seis alpacas de la Raza Huacaya menores de 60 días de edad en el distrito de Huanta, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, Perú. Se obtuvieron muestra de timo que fueron embebidas en OTC y congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido y conservadas a -70°C hasta su procesamiento. Se prepararon secciones congeladas y se montaron las secciones con organosilano. Se realizó la Inunohisquímica empleando anticuerpo primario de ratón y secundarios de conejo; la reacción se evidencio empleando el complejo avidin biotin peroxidasa y se contra coloreo con Hematoxilina. Se empleó anticuerpos monoclonales específicos para la identificación de las subpoblaciones leucocíticas del timo; se evaluaron cinco campos visuales de forma aleatoria a un aumento de 400X. La distribución y densidad de la tinción se clasifico como negativa (-), inconstante (\pm), ligera (+), moderada (++) y fuerte (+++). Los resultados muestran que la mayor población de células leucocíticas se ubicaron en la corteza del timo y correspondieron a células inmaduras que no expresan marcadores de superficie; la mayor población de células inmunomarcadas, en maduración, se ubicaron en la médula del timo, predominando los linfocitos TCR $\alpha\beta$, con valores bajos de linfocitos TCR $\gamma\delta$, linfocitos CD8, linfocitos B y monocitos/macrófagos; con valores inconstantes de linfocitos CD4, En la corteza del timo se observó valores bajos de linfocitos TCR $\alpha\beta$ y linfocitos CD8, y valores inconstantes de monocitos/macrófagos; sin evidencias de linfocitos TCR $\gamma\delta$, linfocitos CD4 y linfocitos B.

Abstract

Euthanasia was performed in six alpacas younger than 60 days old, of the Huacaya breed, in the district of Huanta, department of Ayacucho, in Peru. Thymus samples were obtained and embedded in Optimal Cutting Temperature (OCT) medium. Samples were immediately frozen in liquid nitrogen and preserved at $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ until ready to be processed. Frozen sample fragments were prepared and covered with organosilane. Immunohistochemistry was done using mouse primary and rabbit secondary antibodies; the reaction was obtained with the use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC), and was regressively stained with Hematoxylin. Specific monoclonal antibodies were utilized to identify Leukocyte Subpopulations in thymus; Five fields of view were evaluated randomly at 400X magnification. The staining distribution and density were classified as negative (-), inconsistent (\pm), mild (+), moderate (++) and strong (+++). The results indicate that most of the Leukocyte population was found in the thymus cortex and were immature cells with no surface markers; most of the maturing immunomarked cell population were in the medulla of the thymus, and most of them were $\text{TCR}\alpha\beta$ lymphocytes, and in less proportion $\text{TCR } \gamma\delta$ lymphocytes, CD8 lymphocytes, B lymphocytes and monocytes/macrophages; and inconsistent values of CD4 lymphocytes. In the thymus cortex, there were low values of $\text{TCR}\alpha\beta$ lymphocytes and CD8 lymphocytes; inconsistent values of monocytes/macrophages; and no evidence of $\text{TCR } \gamma\delta$ lymphocytes, CD4 lymphocytes, and B lymphocytes.

I. Introducción

La crianza de alpacas en el Perú es una actividad socioeconómica de gran importancia, especialmente en la zona alto-andina, donde las elevadas tasas de mortalidad por causas infecciosas, principalmente en crías, constituyen un factor limitante en su crianza (Ameghino, 1991). Los primeros estudios en este campo estuvieron abocados en la identificación de los agentes causales, luego a la microbiología y epidemiología; y en la actualidad los investigadores se encuentran abocados en conocer los factores de virulencia de las enfermedades infecciosas causantes de las mayores pérdidas económicas en los productores de alpacas; siendo una de las causas más importantes de muerte en crías de alpacas el complejo entérico neonatal, que origina cuantiosas pérdidas económicas al ganadero alto-andino (Rosadio et al., 2012b).

Fernández Baca (2000) indicaba que existía una escasa comprensión de los mecanismos fisiológicos y fisiopatológicos de los camélidos sudamericanos (CSA), siendo el sistema inmunológico uno de los aspectos menos estudiados; siendo fundamental la comprensión de estos mecanismos de respuesta a los patógenos para diseñar e implementar programas sanitarios de control y prevención. Actualmente, se vienen realizando investigaciones relacionadas a la respuesta inmune en alpacas ante agentes patógenos; como es la expresión de interleucinas ante antígenos clostridiales (Watanabe et al., 2014); la expresión de citoquinas proinflamatorias inducidos por extractos de *Sarcocystis auceheniae* (Hinojosa et al., 2015); o la expresión de inmunoglobulinas y el FNT e

interleucinas en epitelio intestinal de crías de alpacas (Bardález et al., 2013; Dionisio et al., 2014). Así también, se viene evaluando el uso de vacunas anticlostridiales en la prevención del complejo entérico neonatal de alpacas (Rosadio et al., 2012a).

El Perú es el principal productor de CSA del mundo con más de 4.4 millones de cabezas entre alpacas, llamas, vicuñas y guanacos, distribuidas principalmente en la Sierra, con 3 685 000 cabezas, que representa casi total de la población. Asimismo, la raza Huacaya constituye la de mayor número (80,4%) seguida de la Suri, (12,2%), y sus cruces (7,3%). Los resultados del último Censo Nacional Agropecuario, llevado a cabo en 2012, muestra que la población de alpacas aumentó en 50,2% la población registrada en el censo de 1994 (INEI, 2012).

Los camélidos pertenecen al Orden Artiodactyla, conformado por tres subórdenes: **suina** (cerdos, jabalíes y pecaríes); **Cetruminantia**, conformada por Cetancodontomorpha (cetáceos e hipopótamos) y Ruminantiamorpha (rumiantes); y **Tylopoda**, conformada por la familia Camelidae (Spaulding, et al., 2009).

Los camélidos, únicos tilópodos actuales entre los mamíferos artiodáctilos (Hamers y Muldermans, 1989), se diferencian de los rumiantes porque su dentición muestra rastros de incisivos centrales vestigiales en el maxilar superior, y la presencia de dientes caninos verdaderos, separados de los premolares por un

espacio llamado diastema, tanto en el maxilar como en la mandíbula (De Lamo, 2011). Asimismo, los camélidos no poseen pezuñas, sino dos dedos con uñas en cada pie y almohadillas plantares, y a diferencia de los rumiantes que poseen cuatro compartimientos estomacales, los camélidos presentan solo tres denominados como compartimientos proximal, intermedio y distal, según la Veterinary Anatomical Nomina; destacando una región glandular en el compartimento intermedio conformada por glándulas tubulares arregladas en sacos; las cuales están ausentes en los proventriculos de los rumiantes (Alzola et al., 2004)

La alpaca, como toda especie evolucionada, posee un complicado sistema inmune, siendo muy similar en composición al de los rumiantes, con capacidad de responder a distintos agentes infecciosos (Hamers y Muldermans, 1989; Davis *et al.*, 2000). Aunque se ha descrito cierta variación histológica en ganglios linfáticos, bazo y timo de alpacas; habiéndose caracterizado la histología del desarrollo fetal del bazo y el timo en alpacas (Montenegro et al., 2006; Arias et al., 2011), así como la histología y la dinámica linfoide de las Placas de Peyer en neonatos de alpacas menores de 45 días (Roca et al., 2014).

El timo es el primer órgano linfoide que se forma durante el desarrollo fetal. Se origina en la tercera y cuarta bolsa faríngea, y se diferencia de otros órganos linfoides porque contiene células provenientes de distintas láminas embrionarias: endodermo, mesodermo y ectodermo (Carlson, 1990; Noden y De Lahunta, 1990; Chilmonczyk, 1992). El desarrollo del timo embrionario y fetal en

la alpaca sigue un patrón similar al de las especies de rumiantes domésticos. Es así que a los 40 días de edad gestacional se observa un rudimento tímico, entre los 100 y 130 días de define la corteza y la médula, y a partir de los 100 días de edad se evidencian los corpúsculos de Hassal en la médula tímica, llegándose a observar algunos nidos celulares eritroblásticos (Montenegro et al., 2006).

El timo está situado en el tórax, en el mediastino craneal, delante del corazón y los grandes vasos. En los rumiantes, équidos, aves y porcinos, se extiende hacia arriba, por la región del cuello, hasta el tiroides (Latre y Bárcena, 2007). Al nacimiento está totalmente formado y funcional, persistiendo hasta la madurez sexual, donde inicia su involución, siendo reemplazado por tejido adiposo, disminuyendo la proliferación y diferenciación de linfocitos T (Latre y Bárcena, 2007). Esta involución se inicia en la corteza, aunque siempre permanece un remanente de zona medular con actividad residual (Carlson, 1990; Noden y De Lahunta, 1990).

Estructuralmente, el timo presenta lóbulos rodeados por una fina capa de tejido conjuntivo o cápsula que se continúa con finos septos o trabéculas que dividen los lóbulos en lobulillos. Cada uno de ellos comprende una región periférica o zona cortical externa (la corteza) y una región interna o zona medular (Dellmann y Brown, 1980; Montenegro et al., 2006). La corteza está poblada por abundantes timocitos y en menor proporción células epiteliales reticulares grandes. La médula presenta similar conformación celular, pero con una mucho

menor densidad celular, y se observa células reticulares epiteliales queratinizadas conformado los denominados corpúsculos de Hassal. El estroma está conformado por una red tridimensional de tejido conjuntivo, que incluye la cápsula, trabéculas y una fina red de fibras reticulares (Montenegro et al., 2006; Latre y Bárcena, 2007). Los tipos celulares presentes en el timo incluyen a los timocitos o linfocitos, las células epiteliales reticulares o células epiteliales tímicas, las células dendríticas interdigitantes y los macrófagos.

La distribución de los linfocitos en el timo corresponde a un 88% en la corteza y 12% en la médula. Asimismo, mediante la identificación de marcadores antigénicos de superficie se diferencian, poblaciones de linfocitos $CD8^+$ (citotóxicos) y linfocitos $CD4^+$ (colaboradores) o simples positivos (SP) a nivel de la médula tímica, en tanto que en la corteza se observan linfocitos $CD8^+$ y $CD4^+$, doble positivo (DP), y los linfocitos $CD8^-$ o $CD4^-$, doble negativo (DN) (Shortman, 1985; Vaidya et al., 2016).

La doble positividad de linfocitos solo ocurre durante la maduración de las células T en el timo, perdiendo esta doble expresión antes de la migración a sangre periférica y a órganos linfáticos secundarios (Davis y Hamilton, 2006). Sin embargo, se ha descrito la presencia de linfocitos $CD8^+$ y $CD4^+$ (DP), en tejido linfoide asociado a mucosa en porcinos (Zuckermann y Geskins, 1996); y en sangre periférica de humanos y ratones; expresando exclusivamente Receptores de Linfocitos (TCR) del tipo $\alpha\beta$ (Zuckermann y Husmann. 1996).

Godderis (1989) describe en terneros que la mayor población de células en el timo corresponde a los linfocitos T (97%); con una discreta población de células dendríticas (3%); indicando que las linfocitos predominantes en la corteza tímica corresponde a los triples positivos (TP) $CD2^+ CD4^+ CD8^+$ (50 a 60%), sobre los triples negativos (TN) $CD2^- CD4^- CD8^-$ (10 a 20%); en tanto que en la médula tímica predominan los simples positivos $CD4^+$, $CD8^+$ y TCR $\gamma\delta$ (5 al 15%)

Asimismo, se ha descrito en porcinos la presencia de las células T $CD8^-$ y $CD4^-$ (doble negativo), expresando TCR del tipo $\gamma\delta$ (Zuckermann y Geskins, 1996). Se ha postulado que los linfocitos TCR $\gamma\delta$ reconocen antígenos no procesados, no dependiendo de la coestimulación de las células presentadoras de antígeno, optimizando el desarrollo de una respuesta rápida (Hayes et al., 2010).

Todas las células T en desarrollo tienen genes comunes que codifican la producción de TCR, habiendo dos tipos de ellos: TCR $\alpha\beta$ y TCR $\gamma\delta$. Los linfocitos T que exhiben el receptor TCR $\alpha\beta$ se pueden clasificar en las subpoblaciones de linfocitos $CD4^+$ o linfocitos $CD8^+$ (SP), en tanto que los linfocitos que exhiben linfocitos TCR $\gamma\delta$, generalmente no expresan marcadores de diferenciación, $CD4^-$ y $CD8^-$ (DN), por lo que se les denominó como células nulas, en algún momento (Davis et al., 1998). No obstante, se ha descrito que los linfocitos TCR $\gamma\delta$ en porcinos pueden expresar $CD8^+$ (Davis y Hamilton, 2006; Gerner et al., 2015).

Las moléculas antigénicas que activan a los linfocitos TCR $\gamma\delta$ son todavía desconocidas en gran medida. Sin embargo, estos linfocitos tienen la peculiaridad de no requerir procesamiento antigénico o la presentación de epítomos peptídicos por moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CHM). Además, los linfocitos TCR $\gamma\delta$ juegan un papel importante en el reconocimiento de los antígenos no peptídicos de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés) y de los patrones moleculares asociados al daño (DAMPs, por sus siglas en inglés). Estas células parecen estar pre-activadas, mostrando rápidamente funciones efectoras (Davis et al., 1998; Guzman, 2012; Telfer y Baldwin, 2015).

Las células presentadoras de antígeno tienen como función captar, procesar y presentar antígenos a los linfocitos T a través de moléculas CMH II. Si bien algunos leucocitos, como los macrófagos y linfocitos B, pueden presentar antígenos en determinadas situaciones, las células dendríticas interdigitantes son consideradas las células presentadoras de antígeno por excelencia, con una alta capacidad inmune estimulante; siendo primordial en la inducción de los linfocitos $CD4^+$, puente entre el sistema inmune innato y el sistema inmune adaptativo (Arjona, 2007).

Las células epiteliales reticulares poseen origen ectodérmico y endodérmico, clasificándose de acuerdo a su localización y características en limitantes, corticales, medulares, nodrizas o de transición y las que conforman los corpúsculos de Hassal (Montenegro et al., 2006). Funcionalmente, estas células

epiteliales tímicas corticales (cTEC, por sus siglas en inglés) y medulares (mTEC, por sus siglas en inglés), median en los procesos de diferenciación y maduración de los linfocitos T. Los cTEC intervienen en la diferenciación de los timocitos DN a timocitos DP a nivel cortical, en tanto que, a nivel medular, los mTEC y las células dendríticas tímicas participan en la selección positiva de los timocitos a SP (Vaidya et al., 2016).

Se ha descrito la presencia de un porcentaje mínimo de linfocitos B en timo de humanos desde la etapa embrionaria-fetal hasta la adultez, siendo de 1.3% en menores de 10 años y de 2.6% en mayores de 10 años (Flores et al., 2001). Estos linfocitos B se ubican en la médula tímica y se postula que pueden actuar como células presentadoras de antígenos o presentadoras de antígenos somáticos a las células T (Lu et al., 2015; Yamano et al., 2015; Gies et al., 2016), como parte de proceso de educación de células T para la eliminación de clones reactivos con autoantígenos (Isaacson et al., 1987)

En la actualidad se dispone de métodos que permiten diferenciar y cuantificar las poblaciones leucocitarias, como es la técnica inmunohistoquímica. Esta técnica identifica células en tejidos, frotis y cortes histológicos, mediante anticuerpos específicos contra antígenos de superficie formando complejos antígeno-anticuerpo (Haynes y Fauci, 1998; Davis *et al.*, 2000; Davis y Hamilton, 2006). Estas reacciones se hacen visibles mediante marcadores enzimáticos, peroxidasa o fosfatasa alcalina, y generan color sobre un sustrato incoloro (Enciso, 1995)

La respuesta inmune en las diferentes especies animales es similar, pero no idéntica; observándose diferencias en la composición y frecuencia de las subpoblaciones de linfocitos, de allí que se debe tener en cuenta estas consideraciones cuando se analiza la respuesta inmune a patógenos o vacunas (Davis y Hamilton, 2006). Asimismo, se ha descrito en ratones de laboratorio la remodelación de las subpoblaciones de linfocitos en tejidos linfáticos y sangre periférica, observándose cambios sustanciales en estas poblaciones en relación a la edad (Capri et al., 2000). Con base a estos antecedentes, se implementó este estudio con el fin de identificar las poblaciones leucocitarias en el timo posnatal de alpacas menores de 60 días de edad.

II. Materiales y Métodos

Muestras biológicas:

Procedencia

Las muestras de tejidos provinieron del banco de especímenes de órganos del Proyecto “Estudio Histoquímico e Inmunohistoquímico del Sistema Linfático de la Alpaca” desarrollado por Laboratorio de Histología y Patología (LHP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FAVEZ) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH); constituyendo este estudio parte del mencionado proyecto.

Las muestras fueron obtenidas en el distrito de Huanta, provincia de Huanta, departamento de Ayacucho, Perú; en el año 2006. Donde se colectaron muestras de timo de seis alpacas de la Raza Huacaya menores de 60 días de edad identificada por su fenotipo característico (De Lamo, 2011). Los animales fueron, previamente eutanasiadas con pentobarbital sódico a dosis de 200 mg/kg (Bolant et al., 1990), procedimiento previamente aprobado por Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales - UPCH.

Las muestras de tejidos obtenidas en campo fueron embebidas en OTC (Medium Optimal Cutting Temperature -Laboratorios Miles, Elkhart, EEUU) y

congeladas inmediatamente en campo en un tanque de nitrógeno líquido (-196 °C), para luego ser almacenada en congelación a -70 °C hasta su procesamiento.

Lugar de ejecución y procesamiento:

Las muestras fueron procesadas en el LHP de la FAVEZ de la UPCH. Inicialmente las muestras fueron sometidas a criosección de 6 µm de grosor con el uso del criostato LEICA CM 1100 del LP-FAVEZ-UPCH. Los cortes fueron colocados en láminas portaobjetos con Poli-L-Lisina, secados y sumergidos en alcohol absoluto por 8 minutos y posteriormente, secados a temperatura ambiente.

Se prepararon 10 láminas de cada timo y se realizó la técnica inmunohistoquímica para su análisis. Las imágenes fueron evaluadas con un microscopio Zeiss AxioStar vinculado a una cámara Axioscam MRcS5 unido a un Tri-ocular marca Zeiss, para el registro de las imágenes.

Anticuerpos monoclonales (AcM):

Los anticuerpos monoclonales (AcM) usados en el estudio se muestran en la Cuadro 1, utilizando reactivos provenientes del Monoclonal Antibody Center, Department of Veterinary Microbiology & Pathology, College of Veterinary Medicine, Washington State University, como parte del proyecto “Estudio Histoquímico e Inmnohistoquímico del Sistema Linfático de la Alpaca”.

Cuadro 1. Anticuerpos monoclonales (AcM), Isotipo, Cúmulo de Diferenciación (CD) y patrón predominante de expresión celular empleado en la identificación de poblaciones leucocitarias en timo de alpacas (*Vicugna pacos*) menores de 60 días de edad

Ac M	Isotipo	CD	Patrón predominante de expresión celular
TH14B	IgG2a	MHC II	Linfocitos B, Monocitos/Macrófagos, Linfocito T activado
GC50A	IgM	LaCD4	Linfocitos T CD4 (cooperadores)
CAM36A	IgG1	LaCD14	Monocitos/Macrófagos
GB45A	IgG1	BoWC1	Linfocitos TCR $\gamma\delta$.
DH59B	IgG1	SWC3	Granulocitos, Monocitos/Macrófagos
LT10A	IgG2a	Lc1	Linfocitos TCR $\alpha\beta$
LT97A	IgG2b	Lc2	Granulocitos, Monocitos/Macrófagos
LH41A	IgM	-	Linfocitos TCR $\alpha\beta$
KT5A	IgG2a	LaCD8	Linfocitos TCR $\alpha\beta$ $\gamma\delta$
H58A	IgG2a	MHC I	Pan leucocitos y Plaquetas

Prueba de inmunohistoquímica (IHQ):

Se prepararon secciones congeladas del timo y se montaron las secciones con organosilano (triethoxylane 3-aminopropil); inmediatamente, el tejido cortado se secó con aire frío y se fijó con etanol absoluto durante 8 minutos, luego se pre-incubó las secciones del tejido en suero equino al 10%, durante 30 minutos para bloquear la unión no específica del anticuerpo secundario a los elementos del tejido.

Posteriormente se hizo reaccionar los cortes de tejido con el anticuerpo primario (ratón), durante una noche a 4 °C, se enjuagó 3 veces con PBS a temperatura ambiente y luego se hizo reaccionar los cortes de tejido con los anticuerpos secundarios de conejo (diluidos con PBS, 1:100) y la Biotina conjugada durante una hora a temperatura ambiente. Se enjuagó por 3 veces con PBS a temperatura ambiente; se inactivó la peroxidasa endógena, incubando con H₂O₂/metanol al 0.3% por 30 minutos, se enjuagó por 3 veces con PBS a temperatura ambiente.

Se hizo reaccionar los cortes de tejido con el complejo avidina biotina - peroxidasa (ABC – peroxidasa; Vector Labs) por 30 minutos a temperatura ambiente, se enjuagó por 3 veces con PBS a temperatura ambiente; se reveló con H₂O₂ al 0.01%; 3,3 -DAB/0.05M al 0.02%, Tris buffer (pH 7.6) conteniendo 10 mM de azida sódica; se enjuagó con Mili Q o el equivalente purificado de agua y finalmente para evaluar la arquitectura citotisular del timo, se contra coloreo con Hematoxilina..

Evaluación de las láminas procesadas con IHQ;

Las láminas fueron examinadas con microscopía de luz y digitalizadas. Se evaluó semi-cuantitativamente la cantidad de células inmunomarcadas de la zona cortical y zona medular para los diferentes AcM empleados. Las láminas fueron codificadas para identificar el AcM usado para evitar que el revisor disponga de este conocimiento (estudio al azar ciego simple). Se evaluaron cinco campos

visuales de forma aleatoria a un aumento de 400X para cada AcM.

La distribución y densidad de la tinción de células positivas se determinó empleando los criterios adaptados de Galeotti *et al.* (1993) con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de superficie. Se asignó el valor 0 cuando la tinción fue negativa (-); 0.5, cuando fue inconstante (\pm); 1, cuando fue ligera (+); 2, cuando fue moderada (++); y 3, cuando fue fuerte (+++).

Análisis estadístico:

Los datos del análisis de las imágenes se analizaron empleando el programa SPSS v. 19.0 para obtener la estadística descriptiva: media y moda, y fueron resumidos mediante tablas de frecuencias.

III. Resultados

La técnica de procesamiento inmunohistoquímico permitió, en todos los casos, la obtención de láminas de características óptimas para la evaluación semi-cuantitativa de las subpoblaciones de linfocitos en timos de alpacas menores a 60 días de edad. Asimismo, permitió observar la arquitectura y diferenciación entre corteza y médula, con una mayor densidad celular a nivel cortical (Figura 1). Sin embargo, la mayor población de células inmunomarcadas fue observada a nivel medular (Cuadro 2).

La estadística descriptiva de los resultados se presenta en el Anexo 1, en tanto que el resumen de la evaluación semi-cuantitativa (signos) de las subpoblaciones leucocitarias se muestra en el Cuadro 2. En este cuadro se observa una mayor población de linfocitos TCR $\alpha\beta$ $\gamma\delta$ (+++) en la médula, conformado por linfocitos TCR $\alpha\beta$ (++) y TCR $\gamma\delta$ (+), así como una menor población de linfocitos B, monocitos y macrófagos (+). En tanto que los linfocitos T CD8, citotóxicos, se observaron en poca cantidad (+); evidenciándose una población inconstante de linfocitos T CD4, colaborador (ver Figura 2).

En la zona cortical se observó una ligera presencia de linfocitos TCR $\alpha\beta$ y linfocitos T CD8, citotóxico, sin evidencias de monocitos / macrófagos, linfocitos B, linfocitos TCR $\gamma\delta$ y linfocitos T CD4, colaboradores (ver Cuadro 2, Figuras 2 y 3).

Cuadro 2. Distribución y densidad en corteza y médula de las poblaciones leucocitarias en timo de alpacas (*Vicugna pacos*) menores de 60 días de edad. Técnica de tinción inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de superficie. Técnica de Avidin-Biotin-Peroxidasa y Hematoxilina

Anticuerpo Monoclonal	Isotipo Ig	Cúmulo de diferenciación	Corteza*	Médula*	Patrón predominante de expresión celular
H58A	IgG2a	CHM I	+	+++	Pan leucocitos y plaquetas
TH14B	IgG2a	CHM II	-	+++	Linfocitos B, monocito/macrófagos, linfocitos T activados
LT97A	IgG2b	LC2	++	+++	Linfocitos TCR $\alpha\beta\gamma\delta$
LT10A	IgG2a	LC1	+	++	Linfocitos TCR $\alpha\beta$
GB45A	IgG1	BoWC1	-	+	Linfocitos TCR $\gamma\delta$
LT5A	IgG2a	LaCD8	+	+	Linfocito T CD8 (citotóxico)
GC50A	IgM	LaCD4	-	±	Linfocitos T CD4 (colaborador)
LH41A	IgM	-	-	+	Linfocitos B
DH59B	IgG1	SWC3	±	+	Granulocitos, monocitos/macrófagos
CAM36A	IgG1	LaCD14	-	+	Monocitos/macrófagos, granulocitos

*Tinción: negativa (-), inconstante (±), ligera (+), moderada (++), fuerte (+++)

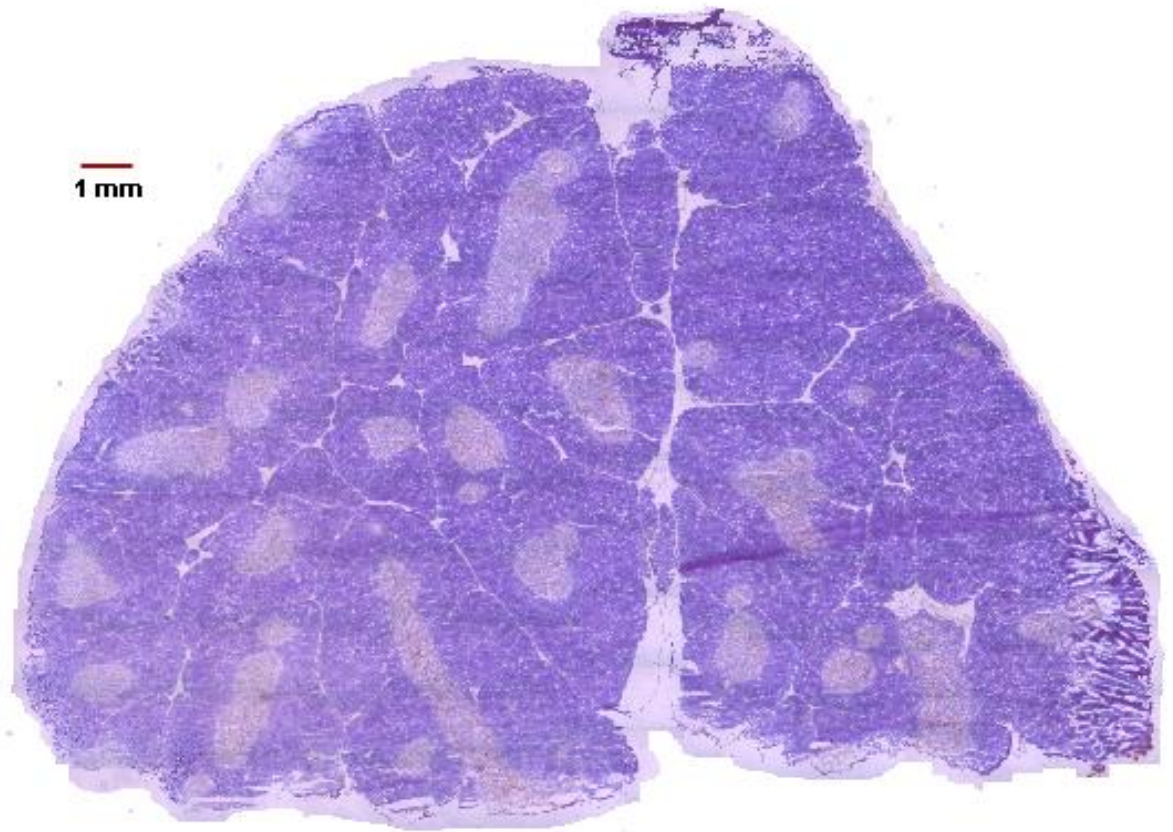


Figura 1. Imagen compuesta de timo de alpacas (*Vicugna pacos*) menores de 60 días de edad, mediante inmunohistoquímica. Técnica de Avidin-Biotin-Peroxidasa y Hematoxilina 40x. Se muestra la distribución histológica de corteza y médula del timo, con una alta densidad celular cortical en comparación a la médula

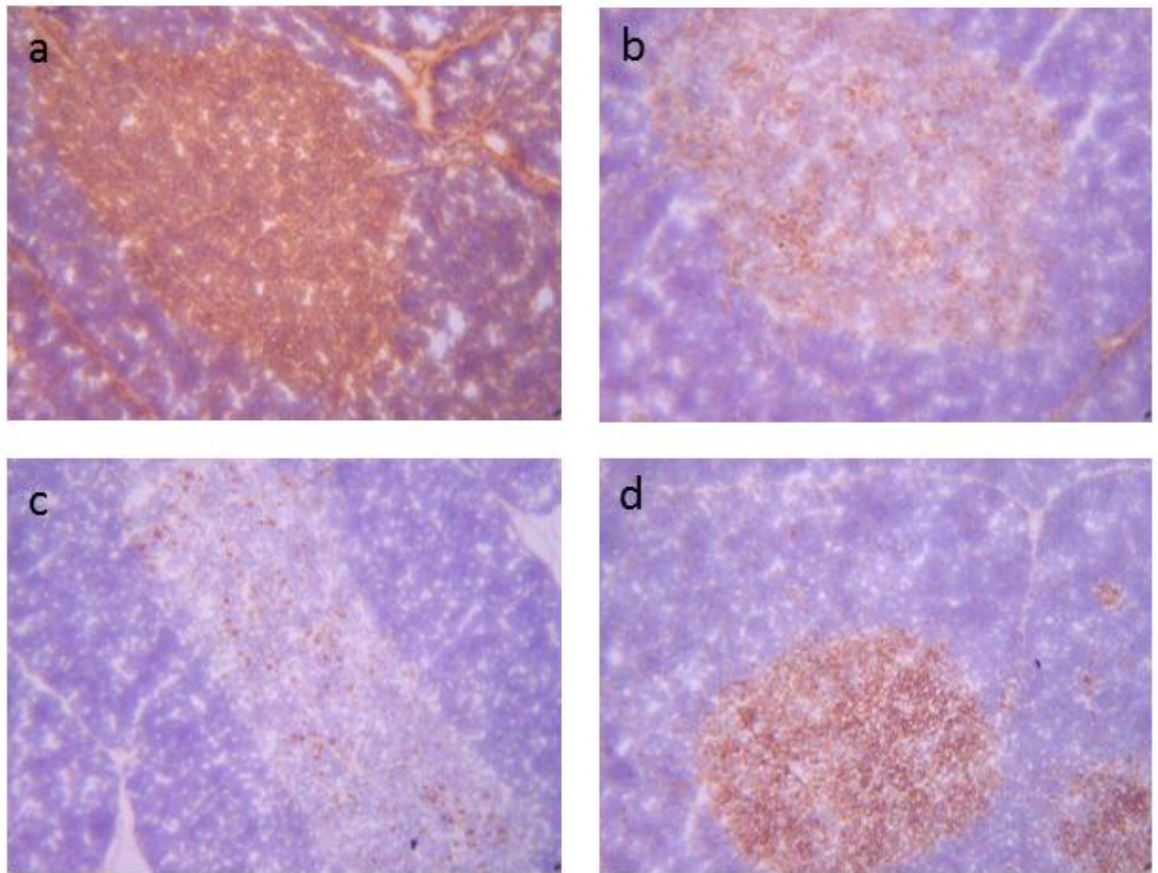


Figura 2. Imágenes de técnica de tinción inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de superficie. Técnica de Avidin-Biotin-Peroxidasa y Hematoxilina en timo de alpacas (*Vicugna pacos*) menores de 60 días de edad. 400x (a) H58A. Pan leucocitos y plaquetas; (b) DH59B. Granulocitos, monocitos/macrófagos; (c) CAM36A. Monocitos/macrófagos, granulocitos; (d) TH14B. Linfocitos B, monocito/macrófagos, linfocitos T activados

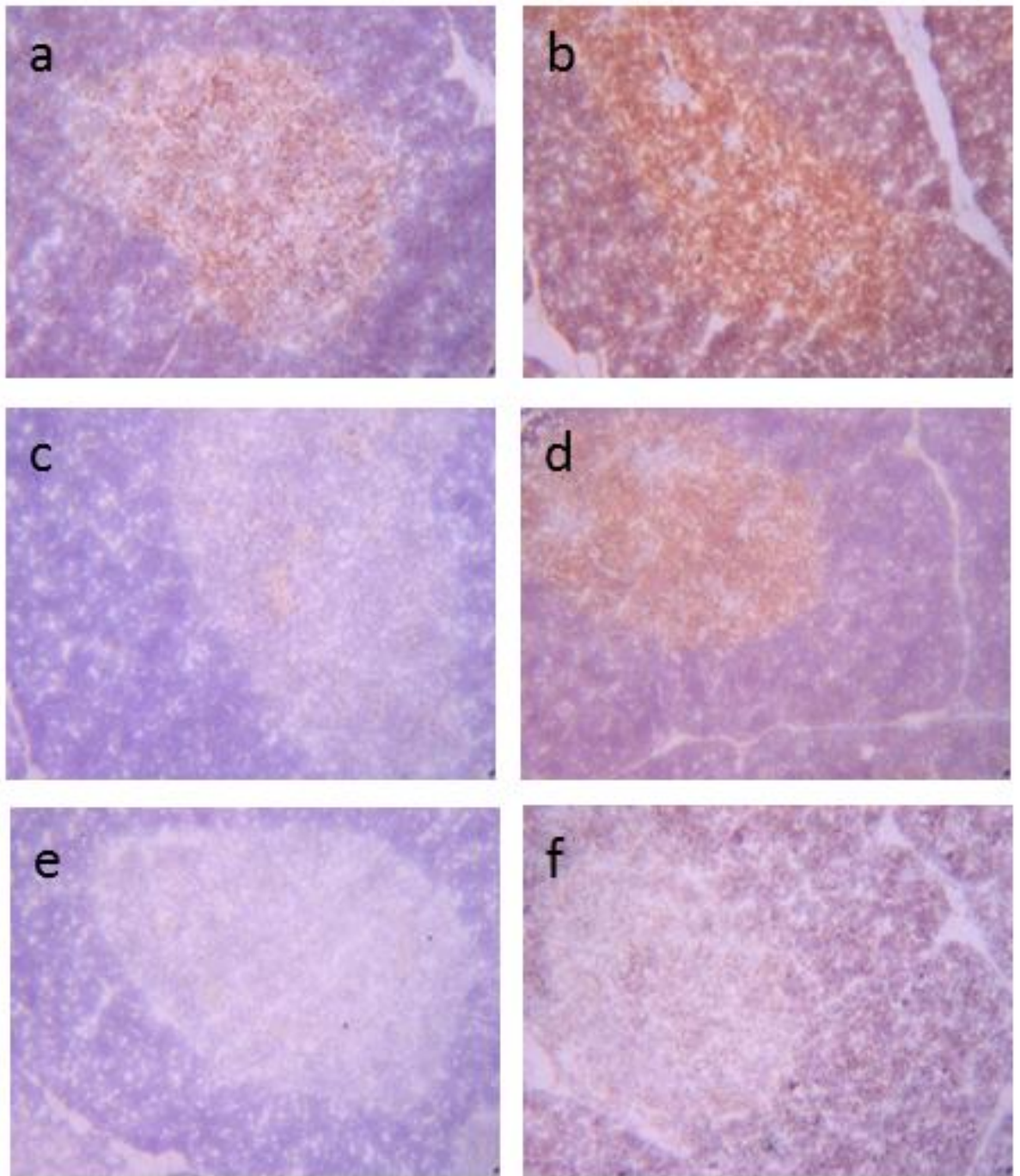


Figura 3. Imágenes de técnica de tinción inmonohistoquímica con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de superficie. Técnica de Avidin-Biotin-Peroxidasa y Hemtoxilina en timo de alpacas (*Vicugna pacos*) menores de 60 días de edad. 400x. a) LH41A. Linfocitos B; b) LT97A. Células TCR $\alpha\beta\gamma\delta$; c) GB45A. Linfocitos TCR $\gamma\delta$; d) LT10A. Linfocitos TCR $\alpha\beta$; e) GC50A. Linfocitos T CD4 (colaborador); f) LT5A. Linfocito T CD8 (citotóxico)

IV. Discusión

En la visualización microscópica de las imágenes de timo se pudo observar el predominio de las células leucocitarias en la zona cortical sobre la zona medular; siendo importante destacar que si bien la mayor población leucocitaria se observó a este nivel; determinado mediante el contraste nuclear con hematoxilina, esta población no correspondió a células inmunomarcadas con la IHQ. Al respecto, Zhao et al. (2001) describieron en ovinos la presencia de pro-timocitos, que expresan CD3⁺, marcador de superficie presente solo en linfocitos T, que mantienen esta positividad hasta su madurez; asimismo describieron los timocitos TN CD3⁻, CD4⁻ y CD8⁻ que corresponden a una etapa muy inmadura de los timocitos, donde no expresan estos marcadores de superficie. Es así, que la población cortical observada, no inmunomarcada, correspondería a una población de timocitos en etapa inmadura.

Se ha descrito que los camellos presentan características únicas en su sistema inmune, como la anticuerpos que carecen de cadenas livianas y solo compuestos de cadenas pesadas homodímeras (Muyldermans et al., 2009), características también presente en los camélidos sudamericanos (De Genst et al., 2006; De Simone et al., 2006). No hay descripción previa de poblaciones leucocitarias en timo de camélidos; sin embargo, han sido descritas las subpoblaciones leucocitarias circulantes en llamas; siendo muy similares a las descritas para camélidos del viejo mundo (Antonacci et al., 2011; Ciccarese et al., 2014) y a especies de rumiantes domésticos (Davis y Hamilton, 2006).

Las descripciones de la distribución de las poblaciones linfocitarias en el timo en diversas especies refirieron que en la zona subscapular se ubican los linfocitos CD4⁻ y CD8⁻ (DN); en el parénquima cortical se ubican los linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ (DP); y en la zona medular los de positividad simple, CD4⁺ o CD8⁺ (SP) (Davis y Hamilton, 2006; Montenegro et al., 2006, Pearse, 2006). Shortman (1985), en base a estudios en humanos y ratones, indicó que la distribución linfocitaria a nivel medular de linfocitos CD8⁺ corresponde al 5% y CD4⁺ al 10%, en tanto que el restante 80% corresponde a los CD4⁺ y CD8⁺ (DP), ubicados en la corteza tímica; sin embargo, también describe una población aún mucho más numerosa que las DP, que atañe a células CD4⁻ y CD8⁻ (DN), correspondiendo a precursores temprano de timocitos.

Sobre lo referido, las alpacas neonatas presentaron características propias en cuanto a la distribución de estas subpoblaciones, mostrando un predominio de linfocitos CD8⁺ (+) sobre los CD4⁺ (±) a nivel medular; no evidenciando CD4⁺ a nivel cortical; a diferencia de lo descrito por Shortman (1985) quien indica un predominio de población de linfocitos CD4⁺ sobre linfocitos CD8⁺ a este nivel en el humano y el ratón.

En relación a la expresión de receptores de linfocitos; se ha descrito que linfocitos TCR $\alpha\beta$ corresponden a linfocitos CD4⁺ o CD8⁺ (SP) y linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ (DP) (Davis y Hamilton, 2006; De Genst et al., 2006; Montenegro et al., 2006). En referencia a ello, los resultados del presente estudio muestran que

los TCR $\alpha\beta$ predominaron en la región medular (++) sobre la cortical (+); siendo este resultado esperado ya que los TCR $\alpha\beta$, corresponden a linfocitos CD4⁺ o CD8⁺ (SP), conservando la distribución ya descrita para esta subpoblación. Al respecto, Godderis (1989) describió en bovinos que en la médula tímica predominan los simples positivos CD4⁺, CD8⁺ y los TCR $\gamma\delta$

Asimismo; los linfocitos que expresan TCR $\gamma\delta$ corresponden a linfocitos CD4⁻ y CD8⁻ (DN) (Davis y Hamilton, 2006; De Gents et al., 2006; Montenegro et al, 2006), observándose en el presente estudio solo una baja población de estos linfocitos a nivel medular; como lo describe Godderis (1989) en terneros donde observa entre 5 a 15% TCR $\gamma\delta$ a este nivel, correspondiendo al centro de diferenciación y maduración de esta población linfocitaria. Al respecto, Davis *et al.* (2000) y Ciccarese *et al.* (2014) indican que la población a nivel sérico de linfocitos T $\gamma\delta$ TCR en rumiantes, cerdos y camélidos del viejo mundo, muestran que están compuestas de dos complejas poblaciones que difieren en su distribución en tejidos; teniendo como funciones principales el reconocimiento de los antígenos no peptídicos, de PAMPs, de DAMPs, y antígenos no procesados, no dependiendo de la co-estimulación de las células presentadoras de antígeno, optimizando el desarrollo de una respuestas rápida (Davis et al., 1998; Hayes et al., 2010; Guzmán et al., 2012; Telfer y Baldwin, 2015).

El presente estudio determinó una escasa población de linfocitos B, monocitos y macrófagos a nivel de la médula del timo, y una inconstante presencia de monocitos y macrófagos en corteza. Ferrero et al. (1999) y Flores et

al. (2001) describen que estas células se encuentran confinadas en la médula tímica y que las células dendríticas, los linfocitos B y las células epiteliales reticulares medulares juegan un papel importante en la selección negativa de los linfocitos T. Asimismo, se ha descrito que los macrófagos participan en fagocitosis de los linfocitos apoptóticos que son originados en este proceso de segregación (Milićević et al., 2014; Szondy et al., 2012).

V. Conclusiones

- La mayor población de células leucocíticas se ubicaron en la corteza del timo y correspondieron a células inmaduras que no expresan marcadores de superficie.
- La mayor población de células inmunomarcadas, en maduración se ubicaron en la médula del timo, predominando los linfocitos TCR $\alpha\beta$, con valores bajos de linfocitos TCR $\gamma\delta$, linfocitos CD8, linfocitos B y monocitos/macrófagos; con valores inconstantes de linfocitos CD4.
- En la corteza del timo se observó valores bajos de linfocitos TCR $\alpha\beta$ y linfocitos CD8, y valores inconstantes de monocitos/macrófagos; sin evidencias de linfocitos TCR $\gamma\delta$, linfocitos CD4 y linfocitos B.

VI. Literatura Citada

1. Alzola RH, Ghezzi MD, Gimeno EJ, Lupidio MC, Castro AN, Rodríguez JA. 2004. Topography and morphology of the llama (*Lama glama*) stomach. *Int. J. Morphol.* 22: 155-164.
2. Ameghino, E. 1991. Causas de mortalidad en crías de alpaca. En: Fernández-Baca S (ed). *Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos*. Santiago de Chile: FAO. p 149-200.
3. Antonacci R, Mineccia M, Lefranc M-P, Ashmaouic HME, Lanave C, Piccinni B, Pesole G, Hassanane MS, Massari S, Ciccarese S. 2011. Expression and genomic analyses of *Camelus dromedarius* T cell receptor delta (TRD) genes reveal a variable domain repertoire enlargement due to CDR3 diversification and somatic mutation. *Molecular Immunology* 48: 1384– 1396.
4. Arias W, Sandoval N, Chavera A, Manchego A. 2011. Caracterización de la citoarquitectura esplénica fetal de alpacas (*Lama pacos*) *Rev Inv Vet, Perú*, 22: 81-88.
5. Arjona A. 2007. Células implicadas en la respuesta inmune. En: Gómez-Lucia, E; del Mar Blanco M; Doménech. *Manual de inmunología veterinaria*, Pearson Prentice Hall. Madrid. p 41- 62.
6. Bardález C, Manchego Chiok KL, Sandoval N, More J, Pezo D, Ramírez M. 2013. Cinética de expresión del factor de necrosis tumoral alfa (FNT-1 α) e interleucina 1 alfa (IL-1 α) en mucosa intestinal de crías de alpaca (*Vicugna pacos*) sanas y con enteropatía. *Rev Inv Vet, Perú*: 24: 381-389.

7. Bolant B, Calvo M A, Cejalvo D, Gimeno LO, Gimeno L, Lloris J M. 1990. La eutanasia en los animales de laboratorio. Centro de investigación. Hospital General Universitario de Valencia. Research in Surgery, Suplemento 5.
8. Capri M, Quaglino D, Verzella G, Monti D, Bonafe M, Cossarizza A, Troiano L, Zecca L, Pasquali-Ronchetti I, Franceschi C. 2000. A cytofluorimetric study of T lymphocyte subsets in rat lymphoid tissues (thymus, lymph nodes) and peripheral blood: a continuous remodelling during the first year of life. *Experimental Gerontology* 35: 613–625
9. Carlson BM. 1990. *Embriología Básica de Patten*. 5ta Ed. P. Interamericana McGraw-Hill, México DF, 584-563.
10. Chilmonczyk S. 1992. The thymus in fish: development and possible function in the immune response. *Annual Rev. of Fish Diseases*, pp. 181-200
11. Ciccarese S, Vaccarelli G, Lefranc M-P, Tasco G, Arianna Consiglio A, Casadio R, Linguiti G, Antonacci R. 2014. Characteristics of the somatic hypermutation in the *Camelus dromedarius* T cell receptor gamma (TRG) and delta (TRD) variable domains. *Developmental and Comparative Immunology* 46: 300–313
12. Davis W, Heirman L, Hamilton M, Parish S, Barrington G, Loftis A, Rogers M. 2000. Flow cytometric analysis of an immunodeficiency disorder affecting juvenile llamas. *Vet Immunol Immunopathol* 74: 103-120.
13. Davis WC, Zuckermann FA, Hamilton MJ, Barbosa JIR, Saalmüller A, Binns RM, Licence ST. 1998 Analysis of monoclonal antibodies that recognize $\gamma\delta$ T / null cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 60:305–316

14. Davis WD, Hamilton MJ. 2006. Use of flow cytometry to characterize immunodeficiency syndromes in camelids. *Small Ruminant Research* 61: 187–193
15. De Genst E, Saerens D, Muyldermans S, Conrath K. 2006. Antibody repertoire development in camelids. *Dev Comp Immunol* 30: 187-198.
16. De Lamo DA. 2011. *Camélidos Sudamericanos: Historia, usos y sanidad animal*. SENASA, Buenos Aires. 51 p.
17. De Simone EA, Saccodossi N, Ferrari A, Leoni J. 2006. Immunochemical analysis of Ig G subclasses and IgM in South American camelids. *Small Ruminant Research* 64: 2–9.
18. Dellmann HD, Brown EM. 1980. *Histología veterinaria*. Ed. Acribia. Zaragoza p. 177-198.
19. Dionisio J, Manchego A, Chiok KL, Sandoval N, More J, Pezo D, Rivera H. 2014. Cinética de expresión de Inmunoglobulina a en el epitelio intestinal de crías de alpaca (*Vicugna pacos*) *Rev Inv Vet: Perú*: 25: 151-161
20. Enciso J. *Patología molecular: aspectos básicos*. 1995. *Avances en Medicina Veterinaria*, Vol. 10.
21. Fernández Baca, S. 2000. *Camélidos Sudamericanos*. *Agroenfoque* N° 114 Lima – Perú p. 48 – 54.
22. Ferrero I, Anjuère F, Martín P, Martínez del Hoyo G, López Fraga M, Wright N, Varona R, Márquez G, Ardavín. 1999. Functional and phenotypic analysis of thymic B cells: role in the induction of T cell negative Selection. *Eur. J. Immunol.* 29: 1598–1609

23. Flores K, Li J, Hale L. 2001. B Cells in epithelial and perivascular compartments of human adult thymus. *Human Pathology* 32: 926-934.
24. Galeotti M, Sarli G, Eleni C, Marcato PS. 1993. Identification of cell types present in bovine haemolymph nodes and lymph nodes by immunostaining. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 36: 319-331
25. Gerner W, Talker S, Koinig H, Sedlaka C, Mair K, Saalmüller A. 2015. Phenotypic and functional differentiation of porcine $\alpha\beta$ T cells: Current knowledge and available tools. *Molecular Immunology*, 66: 3–13
26. Gies V, Guffroy A, Danion F, Billaud P, Keime C, Fauny J-D, Susini S, Soley A, Martin T, Pasquali JL, Gros F, André-Schmutz I, Soulas-Sprauel P, Korganow A-S. 2016. B cells differentiate in human thymus and express AIRE. Article in Press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2016.09.044>.
27. Godderis B. 1989. Immunology of cattle, lymphoid organs. En: Pastor P-P, Griebel P, Bazin H.Govaerts A; Handbook of vertebrate immunology. Academic Press - Great Britain. p 439-444.
28. Guzman E, Price S, Poulson H, Hope J. 2012. Bovine $\gamma\delta$ T cells: Cells with multiple functions and important roles in immunity *Veterinary Immunology and Immunopathology* 148: 161– 167.
29. Hamers R, Muldermans S. 1989. Immunology of camels and llamas. En: Pastor P-P, Griebel P, Bazin H.Govaerts A; Handbook of vertebrate immunology. Academic Press - Great Britain. p 421-435.

30. Hayes SM, Laird RM, Love PE. 2010. Beyond $\alpha\beta$ / $\gamma\delta$ lineage commitment: TCR signal strength regulates $\gamma\delta$ T cell maturation and effector fate. *Seminars in Immunology* 22: 247–251
31. Haynes, B y Fauci, A. 1998. Trastornos del sistema inmunitario. *Harrison principios de medicina interna*. 14va Edicion. Ed. Mc Graw Hill. Interamericana de España. Madrid - España. p. 1991.
32. Hinostroza R. Manchego A, Sandoval N. Chiok KL, More J. 2015. Expresión de citocinas pro-Inflamatorias de leucocitos de alpaca (*Vicugna pacos*) inducidos por el extracto de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae*. *Rev Inv Vet, Perú* 2015; 26: 328-341.
33. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). 2012. Resultados Definitivos, IV Censo Nacional Agropecuario 2012. 62 p.
34. Isaacson PG, Norton AJ, Addis BJ. 1987. The human thymus contains a novel population of B lymphocytes. *The Lancet* 26:1488- 1490.
35. Latre MV y Bárcena MC. 2007. Órganos y tejidos implicados en la Respuesta inmune: En: Gómez-Lucia, E; del Mar Blanco M; Doménech. *Manual de inmunología veterinaria*. Pearson Prentice Hall. Madrid. p. 21-40.
36. Lu F-T, Yang W, Wang Y-H, Ma H-D, Tang W, Yang J-B, Li L, Ansari AA, Lian Z-X. 2015. Thymic B cells promote thymus-derived regulatory T cell development and proliferation. *Journal of Autoimmunity* 61: 62-72.
37. Milićević NM, Lalić IM, Despotović SZ, Ćirić D, Westermann J, De Waal Malefyt R, Milićević Z. 2014 Aberrant Tissue Positioning of Metallophilic

- Macrophages in the Thymus of XCL1-Deficient Mice. *The Anatomical Record* 297:1472–1477.
38. Montenegro J, Sandoval N, Chavera A, Manchego A. 2006. Caracterización histológica del timo en fetos de alpaca. *Rev Inv Vet, Perú*, 17: 26-32.
39. Muyldermans S, Baral TN, Cortez Retamozzo V, De Baetselier P, De Genst E, Kinne J, Leonhardt H, Magez S, Nguyen VK, Revets H, Rothbauer U, Stijlemans B, Tillib S, Wernery U, Wynsa L, Hassanzadeh-Ghassabeh Gh, Saerens D. 2009. Camelid immunoglobulins and nanobody technology. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 128: 178–183
40. Noden DM, De Lahunta A. 1990. Embriología de los animales domésticos. Ed. Acribia, Zaragoza. p. 231-232, 295-304
41. Pearse G. 2006. Normal Structure, Function and Histology of the Thymus *Toxicologic Pathology*, 34:504–514.
42. Roca V, Manchego A, Sandoval N, Chiok KL Rivera H. 2014. Caracterización histológica y dinámica linfoide de las placas de Peyer en crías de alpaca durante los 45 primeros días de vida. *Rev Inv Vet, Perú*, 25: 341-349.
43. Rosadio R, Yaya K, Véliz A, Quispe T. 2012a. Efecto protector de una vacuna polivalente anticlostridial sobre la mortalidad neonatal en alpacas. *Rev Inv Vet, Perú* 23: 299-306
44. Rosadio R, Maturrano L, Pérez D, Luna L. 2012b. El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Rev Inv Vet, Perú*, 23: 261-271

45. Shortman K. 1985. What the papers say: Early steps in T lymphocyte development within the thymus. *BIOESSAYS*: 2: 215–216
46. Spaulding M, O'Leary MA, Gatesy J. 2009. Relationships of Cetacea (Artiodactyla) Among Mammals: Increased Taxon Sampling Alters Interpretations of Key Fossils and Character Evolution. *PLoS ONE* 4(9): e7062. doi:10.1371/journal.pone.0007062.
47. Szondy Z, Garabuczi E, Tóth K, Kiss B, Köröskényi K. 2012. Thymocyte death by neglect: contribution of engulfing macrophages. *Eur. J. Immunol.* 42: 1662–1667
48. Telfer JC, Baldwin CL. 2015. Bovine gamma delta T cells and the function of gamma delta T cell specific WC1 co-receptors *Cellular Immunology* 296: 76–86
49. Vaidya HJ, Briones Leon A, Blackburn C. 2016. FOXP1 in thymus organogenesis and development. *Eur. J. Immunol.* 46: 1826–1837
50. Watanabe R, Manchego A, Rivera H. 2014. Expresión *in vitro* de las interleucinas 2 y 10 de linfocitos de alpacas (*Vicugna pacos*) en presencia de antígenos clostridiales. *Rev Inv Vet Perú* 25: 419-429.
51. Yamano T, Nedjic J, Hinterberger M, Brors B, Kyewski B, Klein L. 2015. Thymic B cells are licensed to present self antigens for central T cell tolerance induction. *Immunity* 42, 1048–1061.
52. Zhao T, He Ch, Su M, West CA, Swanson SJ, Young AJ, Mentzer SJ. 2001. Cell adhesion molecule expression in the sheep thymus. *Developmental and Comparative Immunology* 25: 519-530

53. Zuckermann FA, Gaskins HR. 1996. Distribution of porcine CD4/CD8 double-positive T lymphocytes in mucosa-associated lymphoid tissues. *Immunology* 87: 493-499.
54. Zuckermann FA, Husmann RJ. 1996. Functional and phenotypic analysis of porcine peripheral blood CD4/CD8 double-positive T cells. *Immunology* 87: 500-512.

VII. Anexos

Anexo 1. Media y moda de la distribución y densidad, corteza y médula, de las poblaciones leucocitarias en 06 muestras de timo de alpacas (*Vicugna pacus*) menores de 60 días de edad. Técnica de tinción inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de superficie, técnica de Avidina Biotina Peroxidasa y Hematoxilina,

Anticuerpo Monoclonal / Leucocito	H58A		TH14B		LT97A		LT10A		GB45A		LT5A		GC50A		LH41A		DH59B		CAM36A	
	Pan Leu		LB Mo	Ma	LT αβ	γδ	LT αβ		LT γδ		LT CD8		LT CD4		LB		Gr Mo	Ma	Mo	Ma
Muestra/ Zona	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C	M	C
1	3	1	3	0	3	2	1	1	1	0	0	2	0.5	0	1	0	1	0	1	0
2	3	1	3	0	3	2	1	1	1	0	1	1	0.5	0	1	0	1	0	1	0
3	3	1	3	0	3	2	2	1	1	0	1	2	0	0	0	0	1	0	1	0
4	3	0	3	0	3	2	2	0	1	0	1	2	0	0	0	0	2	1	1	0
5	3	1	3	0	3	2	3	1	1	0	1	1	0.5	0	1	0	1	0	1	0
6	3	1	3	0	3	2	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Moda	3	1	3	0	3	2	1	1	1	0	1	2	0	0	1	0	1	0	1	0
Media	3.0	0.8	3.0	0.0	3.0	2.0	1.7	0.7	1.0	0.0	0.8	1.3	0.3	0.0	0.7	0.0	1.0	0.2	1.0	0.0

Médula (M), Corteza (C). Tinción: negativa (0), inconstante (0.5), ligera (1), moderada (2), fuerte (3). Pan leucocitos (Pan Leu), Linfocito B (LB), Monocito (Mo), Macrófago (Ma), Linfocito T αβ (LT αβ), Linfocito T γδ (LT γδ), Linfocito T CD8 (LT CD8), Linfocito T CD4 (LT CD4), Granulocito (Gr).

VIII. Glosario

CSA	Camélidos sudamericanos
CD	Cúmulo de Diferenciación
CD8 ⁺	Linfocito citotóxico
CD4 ⁺	Linfocito colaborador
SP	Simples positivos: CD8 ⁺ CD4 ⁻ o CD8 ⁻ o CD4 ⁺
DP	Doble positivo: CD8 ⁺ CD4 ⁺
DN	Doble negativo: CD8 ⁻ CD4 ⁻
TP	Triples positivos: CD2 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (bovinos) CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (ovinos)
TN	Triples negativos: CD2 ⁻ CD4 ⁻ CD8 ⁻ (bovinos) CD3 ⁻ CD4 ⁻ CD8 ⁻ (ovinos)
TCR $\alpha\beta$	Receptores de Linfocitos del tipo $\alpha\beta$
TCR $\gamma\delta$	Receptores de Linfocitos del tipo $\gamma\delta$
CHM I	Complejo mayor de histocompatibilidad tipo I
CHM II	Complejo mayor de histocompatibilidad tipo II
PAMPs*	Patrones moleculares asociados a patógenos
DAMPs*	Patrones moleculares asociados al daño
cTEC*	Células epiteliales tímicas corticales
mTEC*	Células epiteliales tímicas medulares

* Por sus siglas en inglés