

# QUANTEC COMO INMUNOMODULADOR DEL SISTEMA DE DEFENSA EN AVES RAPACES.

Juan M Blanco, Alberto J Martínez, Ursula Höfle

Correspondence to: Dr. Juan Manuel Blanco. DVM, PhD. *Director de Investigación y Conservación.*  
*Fundación Aquila, Toledo, España.* Email: [Aquila.foundation@hotmail.com](mailto:Aquila.foundation@hotmail.com)

## INTRODUCCIÓN

Cada vez más, entendemos la enfermedad como una “ruptura del equilibrio” de cualquier sistema vivo. Por tanto, la salud de cualquier organismo depende en buena medida de su “capacidad” para mantener ese equilibrio en todo momento, y en especial ante el eventual ingreso de un agente patógeno. Tanto las reacciones muy exacerbadas (como en el caso de las alergias o las miopatías de captura) como las insuficientes conllevan un desequilibrio final del sistema por exceso o por defecto, y por tanto la aparición de signos clínicos.

Este nuevo paradigma de enfermedad y su comprensión adquieren especial relevancia ante la creciente prevalencia tanto de procesos alérgicos como de enfermedades emergentes. Podríamos por tanto medir la eficacia de un sistema inmune en función de su “flexibilidad” para asumir los cambios permaneciendo en equilibrio y su “agilidad” para retornar al equilibrio en casos extremos. En este escenario, cobra especial relevancia el concepto de inmuno modulación e inmunomoduladores.

Los animales salvajes en general, y ciertas aves en particular, son especialmente sensibles a los cambios en su ambiente. El estrés subagudo y crónico ocasionado por múltiples factores: la causa de su ingreso en un centro de recuperación (trauma, enfermedad,..etc), o la estancia y manejo en cautividad, son reconocidos y aceptados como los primeros factores de estrés causantes de inmunosupresión y el desarrollo de enfermedades secundarias en animales salvajes.

## OBJETIVOS.

Desde hace décadas la medicina busca con ahínco compuestos y protocolos capaces de mejorar la respuesta inmune tanto en humanos como en animales. El presente estudio persigue investigar la potencial utilidad de Quantec como herramienta en el proceso global de inmunomodulación. Para ello, realiza una evaluación comparativa de la respuesta al estrés del manejo en rapaces

salvajes tratadas y no tratadas con Quantec mediante el diseño de un experimento doble ciego. De esta manera el estudio elimina tanto el efecto placebo como el observador centrándose en la acción del terapeuta mediante Quantec.

El diseño del experimento permite evaluar los efectos a nivel hematológico, de defensa local y humoral. El objetivo final es poder contar con datos objetivos sobre la potencial utilidad de QUANTEC como herramienta de apoyo en un nuevo paradigma del manejo médico de las aves salvajes.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para la realización de este estudio se eligieron dos especies de aves rapaces salvajes cautivas en las instalaciones de un centro de recuperación: el águila culebrera (*Circaetus gallicus*) y el águila calzada (*Aquila pennata*). Para cada especie se estableció un grupo control (n=4) y un grupo tratado con Quantec (n=3) función de la disponibilidad de aves. Todas las aves incluidas fueron ejemplares irrecuperables sanos. Conforme al doble ciego, tanto los manejadores como el veterinario implicado en la experiencia no fueron informados ni de la naturaleza del experimento, el tipo de tratamiento, ni de qué grupo era objeto del mismo.

A todas las aves se les sometió a captura y manejo cada 15 días. La primera toma de muestras se determinó como T 0. El día 30 se procedió a la segunda toma de muestras de sangre (T1). Coincidiendo con el día 30 y tras la extracción se procedió a realizar la prueba cutánea de evaluación de respuesta del sistema inmune utilizando el mitógeno PhA, fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris*, y su evaluación a las 24h. Un mes más tarde (T2) se procedió a la inyección intraperitoneal de 0.1ml de PBS con 0.5mg/ml de lipopolisacáridos (LPS) de *E.coli* O5:55 (Sigma-Aldrich, Madrid, España) de alto poder inmunógeno procediendo a la toma de sangre para la detección de anticuerpos diez días después, en el momento más álgido de la producción de anticuerpos (T3).

Para una evaluación lo más completa posible de la respuesta inmune se utilizó una combinación de tres métodos: (1) Hematología, (2) prueba de reacción cutánea a la infiltración de fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* en el área patagial y (3) producción de anticuerpos frente a la inyección intraperitoneal de lipopolisacáridos de *E.coli*. Los anticuerpos producidos frente a LPS y PHA se midieron mediante un ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) indirecto, empleando un anti IgG multi-especie aviar comercial conyugado con peroxidasa (goat anti-bird IgG, Bethyl-laboratories, Montgomery, EEUU). Para ello se determinó, en un experimento preliminar, la afinidad de este anticuerpo para la IgG de águila calzada y culebrera y las diluciones óptimas del

anticuerpo secundario. Un experimento previo adicional determinó la dilución óptima de la muestra para que las concentraciones de anticuerpos humorales se midan en la parte lineal de la curva sigmoidal (Martinez et al., 2003).

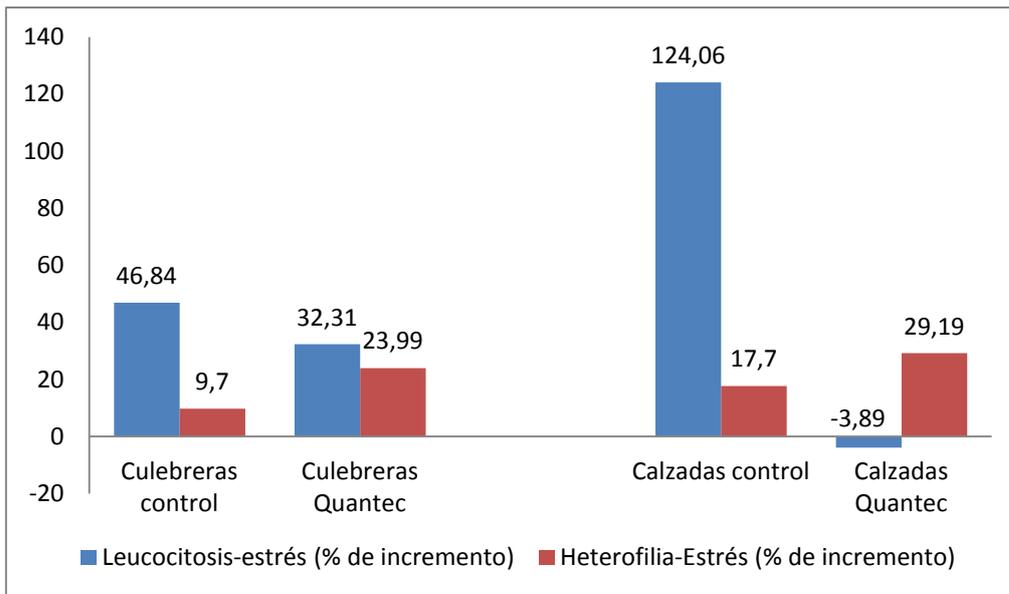
El tratamiento con Quantec consistió en la realización y aplicación de dos "Healing Sheaths" por cada paciente tratado: una de armonización general y otra con afirmaciones específicas para bioinformar y pedir la respuesta más equilibrada del sistema a los factores de estrés y "challenge". Dicho tratamiento se mantuvo durante el tiempo de duración del estudio.

## **RESULTADOS**

### a) Hematológicos:

Los recuentos totales de glóbulos blancos muestran ya el día 30(T1) un aumento significativo en todos los individuos como respuesta al estrés. Sin embargo, este incremento medio es del 46,8% en las águilas culebreras no tratadas mientras que en las tratadas es significativamente menor disminuyendo al 32,3%. Este mismo patrón se repite en el águila calzada, si bien en esta especie la diferencia entre grupos es muy superior. Las águilas calzadas sin Quantec experimentaron un aumento del total de glóbulos blancos del 124% mientras que las tratadas se mantuvieron en niveles basales.

En el caso del recuento diferencial, todas las águilas desarrollaron heterofilias relativas. No obstante, y de forma inversa, en las aves tratadas con Quantec el porcentaje de heterófilos aumentó de forma más acusada (23,9% Vs 9,7% en culebreras y 29,1% Vs 17,7% en calzadas) en comparación con el grupo control en ambas especies.



*Fig 1: Gráfica comparativa del porcentaje de incremento en el número de leucocitos y el recuento diferencial de heterófilos en águilas calzadas y culebreras control Vs tratadas con Quantec tras 30 días de tratamiento (T1).*

El análisis hematológico a los dos meses del inicio de la experiencia (T2) confirmó la misma tendencia detectada a los treinta días de tratamiento.



*Fig 2: Especies participantes en el estudio. El águila culebrera (Circaetus gallicus) y el águila calzada (Aquila pennata).*

B) Prueba de reacción cutánea a infiltración de fitohemaglutinina.

En concordancia con lo observado a nivel hematológico, los incrementos en el grosor del patagio fueron significativamente superiores en los pacientes control Vs los tratados con Quantec en ambas especies (Culebreras: 6,25 Vs 3,0 mm y Calzadas: 5,53 Vs 2,63).

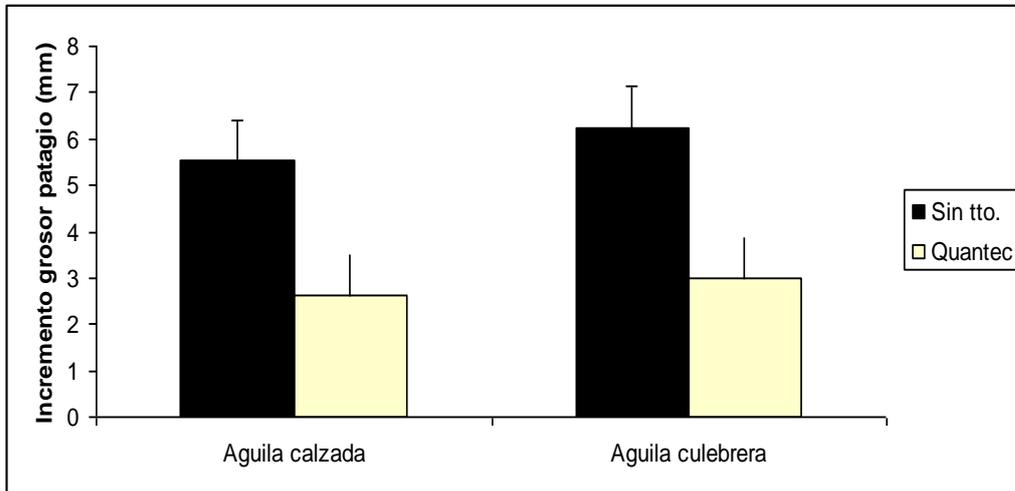


Figura 3: Incremento del grosor del patagio (mm) tras la inyección intrapatagial de fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* en ambas especies y grupos.



Fig 4: Medida de la reacción cutánea patagial durante la prueba de la fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* en un águila culebrera.



*Fig 5. Detalle de la reacción cutánea patagial en un águila calzada.*

C) Producción de anticuerpos frente a lipopolisacáridos de E.coli de alto poder inmunógeno.

La respuesta frente a los dos antígenos difirió, tanto entre grupos de tratamiento por Quantec como entre especies (Figuras 6 y7). Curiosamente la concentración de IgG en suero, anterior a los retos con el antígeno bacteriano en ambas especies eran más bajas en aquellas aves que recibían tratamiento con Quantec, de forma significativa en el águila calzada ( $F_1=10.915$ ,  $p<0.05$ ).

En el grupo de las águilas culebreras no tratadas con Quantec ambos antígenos causaron una respuesta humoral aunque moderada, mientras en las aves tratadas con Quantec la presencia de anticuerpos específicos en sangre periférica de los antígenos empleados descendió (Figura 6)

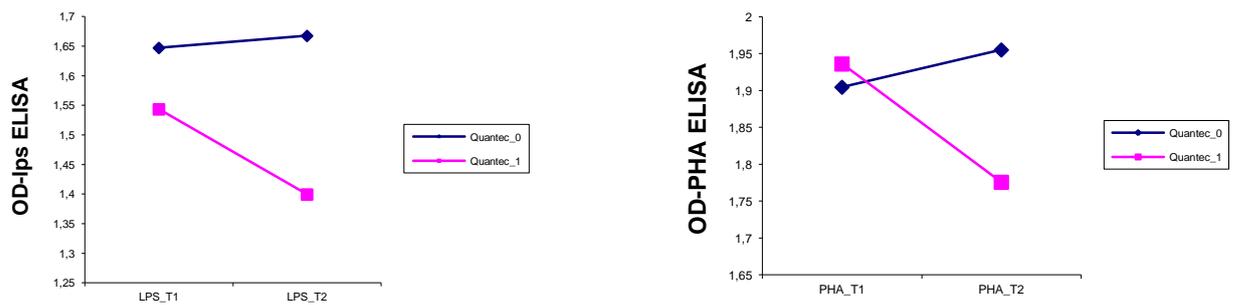


Figura 6: Respuesta humoral en el águila culebrera a) frente a LPS de *E.coli* O5:55 y b) frente al mitógeno PHA

En el águila calzada no se detecta de media una reacción humoral significativa frente a LPS pero si frente a la lectinas PHA, siendo el incremento de anticuerpos humorales frente este antígeno más alto que en aquellos individuos no tratados con Quantec.

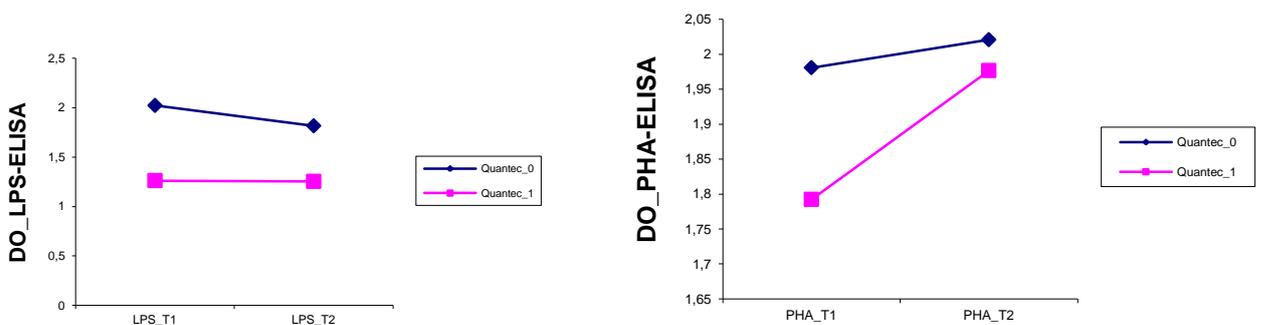


Figura 7: Respuesta humoral en el águila calzada a) frente a LPS de *E.coli* O5:55 y b) frente al mitógeno PHA

## CONCLUSIONES

En función de las experiencias y pruebas realizadas, los resultados apuntan las siguientes conclusiones:

1. En las especies y condiciones del estudio, el tratamiento con Quantec actuó como modulador de la respuesta inmune produciendo en todos los pacientes tratados una moderación en la respuesta tanto al estrés del manejo como a agentes externos como la fitohemaglutinina de *Phaseolus vulgaris* o los lipopolisacáridos de *E.coli*. La total coherencia en lo observado para los tres métodos de evaluación de la respuesta inmune (los cuales cubren aspectos complementarios de la misma) refuerzan esta conclusión a nivel global.

2. El tipo de respuesta obtenida apunta a que Quantec actúa “bioinformando” al paciente en tratamiento sobre los potenciales cambios en el ambiente o “equilibrio” del sistema, de manera que dicha pre-información facilita una adecuación o equilibrio en la respuesta. En qué medida esta estrategia suponga una ventaja ante según qué agentes potencialmente patógenos concretos (virus, bacterias, parásitos..etc) en una situación clínica real es algo a determinar y que requiere estudios específicos posteriores.
3. La evaluación de los parámetros hematológicos y su evolución en el tiempo evidencia una menor alteración de dichos valores ante el estrés subagudo y crónico ligado al manejo y la toma de muestras en los pacientes tratados con Quantec. Este extremo sugiere la utilidad de esta herramienta de bioinformación en la profilaxis y tratamiento del estrés en aves salvajes inmediatamente a su ingreso en los centros de recuperación y durante todo el proceso médico y de rehabilitación los cuales conllevan un manejo inherente.
4. En concordancia con los resultados hematológicos obtenidos, la menor respuesta humoral, tanto frente a LPS de E.coli O5:55 como al mitógeno PHA, puesta de manifiesto en los pacientes modulados con Quantec sugiere un potencial bioreconocimiento e inmuno-tolerancia.
5. La respuesta de inmunomodulación obtenida en un porcentaje relevante de los pacientes bioinformados es de interés y requiere estudios posteriores con una muestra más amplia. Los resultados preliminares sugieren la necesidad de investigar en profundidad el potencial de este método de bioinformación, en especial en la prevención y tratamiento de procesos alérgicos, autoinmunes y tumorales.