

XXI JAP

Jornadas de actualización porcina

Memorias

*Alicia Carranza, Lucas Milanesio, Julián Parada,
Gabriel Di Cola, Natalia Pereyra, Bibiana Pelliza,
Maite Corti Isgro y Roberto Ambrogi*

Compiladores

Actas

3 y 4 de Noviembre de 2022
Río Cuarto, Córdoba, Argentina



ISBN 978-987-688-505-8

e-book

UniRío
editora

Jornadas de actualización porcina : memorias / Alicia Carranza ... [et al.] ; compilación de Alicia Carranza ... [et al.]. - 1a ed. - Río Cuarto : UniRío Editora, 2022.
Libro digital, PDF - (Actas)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-688-505-8

1. Ganado Porcino. 2. Jornadas. 3. Producción Pecuaria. I. Carranza, Alicia, comp.
CDD 636.4

Jornadas de actualización porcina: memorias
Carlos Manuel González

2022 © UniRío editora. Universidad Nacional de Río Cuarto
Ruta Nacional 36 km 601 – (X5804) Río Cuarto – Argentina
Tel.: 54 (358) 467 6309 –
editorial@rec.unrc.edu.ar – www.unirioeditora.com.ar

Primera edición: *noviembre de 2022*

ISBN 978-987-688-505-8



http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR

Consejo Editorial

Facultad de Agronomía y Veterinaria
Prof. Alicia Carranza y Prof. Mercedes Ibañez

Facultad de Ciencias Económicas
Prof. Clara Sorondo

Facultad de Ciencias Exactas,
Físico-Químicas y Naturales
Prof. Sandra Miskoski

Facultad de Ciencias Humanas
Prof. Graciana Perez Zavala

Facultad de Ingeniería
Prof. Marcelo Alcoba

Biblioteca Central Juan Filloy
Bibl. Claudia Rodríguez y Prof. Mónica Torreta

Secretaría Académica
Prof. Sergio González y Prof. José Di Marco

Equipo Editorial

Secretaría Académica: Sergio González

Director: *José Di Marco*

Equipo: *José Luis Ammann, Lara Oviedo, Maximiliano Brito, Daniel Ferniot,
Ana Carolina Savino, Marcela Rapetti y Roberto Guardia.*

DETERMINACIÓN DE APOPTOSIS EN EXPLANTES INTESTINALES PORCINOS COLONIZADOS CON *LAWSONIA INTRACELLULARIS* Y TRATADOS CON UN ANTIBIÓTICO CON EFECTO PROTECTOR

Pérez Gaudio, D.S.¹; Mozo, J.²; Martínez, G.¹; Decundo, J.¹; Romanelli, A.¹; Caeiro, V.¹; Dieguez, S.¹; Soraci, A.¹,
¹Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET), FCV-UNCPBA, Tandil, Bs. As., Argentina; ²Actividad Privada

INTRODUCCIÓN

Lawsonia intracellularis (LAW) es un microorganismo intracelular obligado, agente causal de la enteropatía proliferativa porcina (EPP). Se especula que la apoptosis tienen importancia en esta patología, aunque esto aún necesita ser mejor elucidado. Por otro lado, entre los antibióticos (ATB) utilizados en producción porcina se encuentra la fosfomicina (FOS), la cual ha mostrado tener efectos extra-ATB. En estudios anteriores hemos demostrado que FOS es capaz de proteger a diversas líneas celulares de los cambios morfológicos nucleares compatibles con apoptosis (CMNCA) inducidos por deoxinivalenol (DON) (Pérez Gaudio y cols., 2016) y que es capaz de penetrar en explantes intestinales colonizados por LAW (Pérez Gaudio y cols., 2018). Sin embargo, hasta el momento, no se han realizado estudios sobre su rol protector sobre explantes intestinales colonizados con LAW. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el %CMNCA en explantes intestinales porcinos colonizados con LAW, confirmar que los mismos se deben a apoptosis y evaluar el rol protector de FOS.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cuatro cerdos clínicamente sanos en etapa de terminación. Luego del sacrificio, el intestino se extrajo inmediatamente, se removió su contenido y se transportó a 4°C al Lab. de Toxicología (FCV-UNCPBA). Se cortaron fragmentos de 3 cm de longitud, se abrieron a lo largo del borde mesentérico y se colocaron en placas de Petri a fin de ser lavados por agitación. La mucosa fue cortada en piezas circulares de 1,30 cm² (explantes), las cuales se fijaron sobre esponjas con las vellosidades hacia arriba y se colocaron dentro de cada pocillo de una placa de cultivo. Se adicionó 1 mL de DMEM con GlutaMax™ I (Gibco) y 1 mL de F-12 Nutrient Mixture (Gibco). Por acción capilar, el medio cubrió las vellosidades y mantuvo viable el tejido. Los explantes se incubaron durante 24 hs, por duplicado, de la siguiente manera: **Control negativo**: Explantes incubados con solución fisiológica; **FOS**: Sal cálcica; 580 µg/mL (Bedson S.A.); **LAW**: 2,2×10⁸ mL⁻¹; **LAW + FOS**: LAW 2,2×10⁸ + FOS cálcica 580 µg/mL. Finalizada la incubación, los explantes se colocaron en formol al 10% para su fijación y posterior realización de cortes histológicos, por cuadruplicado. Para cada tratamiento, dos de los cortes fueron desparafinados, fijados con paraformaldehído (PFA) al 1% (tinción DAPI) y observados bajo microscopio de fluorescencia. Los %CMNCA se calcularon utilizando el macro de apoptosis del software FIJI®. Para confirmar la apoptosis, los otros duplicados fueron fijados con PFA al 4%, teñidos con TUNEL y observados bajo microscopio óptico a fin de calcular el índice apoptótico (IAp) utilizando la fórmula: $IAp = [(células\ TUNEL\ positivas / células\ totales) \times 100]$.

RESULTADOS

La figura 1 muestra cortes de explantes intestinales teñidos con DAPI (fluorescencia en células con CMNCA) y la figura 2 muestra cortes teñidos con

TUNEL (color marrón oscuro en células apoptóticas). Existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$) entre los %CMNCA y el IAp inducido por LAW y el de los demás tratamientos y el control negativo, mientras que no existieron diferencias ($p \geq 0,01$) entre estos últimos tres. Por otro lado, se demostró que los CMNCA se corresponden con células apoptóticas.

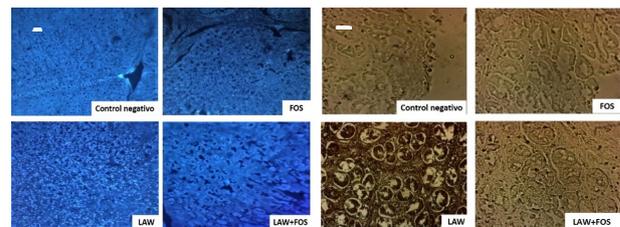


Figura 1. Explantes intestinales. A) DAPI; B) TUNEL

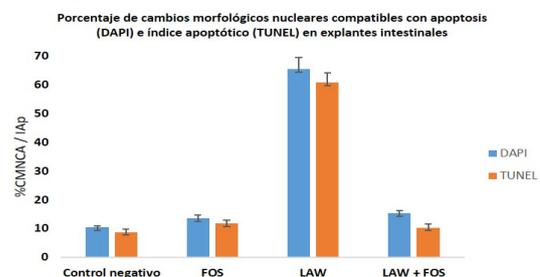


Figura 2. Porcentaje de CMNCA e IAp en explantes intestinales.

DISCUSIÓN

Una disminución de la apoptosis ha sido postulada como la causa de la proliferación celular que se produce en la EPP. Sin embargo, en las primeras 24 hs de exposición, LAW mostró inducir apoptosis en explantes intestinales porcinos. Por su parte, Guedes y cols. (2017) demostraron que enterocitos infectados con LAW tienen un aumento en los eventos apoptóticos. Además, Oh y cols. (2010) señalan que los genes proapoptóticos aumentan a las 48 hs post-infección. Por otro lado, FOS fue capaz de proteger a los explantes de la apoptosis. Estos hallazgos concuerdan con nuestros estudios en células intestinales CACO-2 y en otras líneas de diverso origen, utilizando al DON como inductor de apoptosis (Pérez Gaudio y cols., 2020). Se necesitan más estudios para dilucidar el mecanismo por el cual LAW induce apoptosis y por el que FOS protege a las células de dicho evento.

BIBLIOGRAFÍA

- Guedes y cols. (2017). *Lawsonia intracellularis* in Pigs: Progression of lesions and involvement of apoptosis. *Vet Path.* (54)4:620-628.
- Oh y cols. (2010). Microarray analysis of differential expression of cell cycle and cell differentiation genes in cells infected with *Lawsonia intracellularis*. *Vet J.* 184(3):340-345.
- Pérez Gaudio D.S. y cols. (2016). Protective effect of fosfomicin in deoxynivalenol-treated cell cultures. *Eur J of Biom and Pharm Sci.* 3(7):99-106.
- Pérez Gaudio y cols. (2018). *Ex vivo* penetration of fosfomicin into healthy and *Lawsonia intracellularis*- colonized swine intestinal mucosa. *J Vet Pharmacol Ther.* (41)6:878-886.
- Pérez Gaudio y cols. (2020). Fosfomicin protects intestinal cells from nuclear changes suggestive of deoxynivalenol-induced apoptosis. *J of Rep in Pharm Sci.* 9(2):209-214.