

LIBRO DE
RESÚMENES



UNR

XXI Jornadas de Divulgación Técnico- Científicas 2021

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS-UNR

ISBN 978-987-702-552-1

Libro de Resúmenes de las XXI Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2021 /Andrea Boaglio... [et al.] ; compilación de Vanesa Barichello ; editado por Andrea Boaglio. - 1a ed. - Rosario: UNR Editora, 2022.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-702-552-1

1. Veterinaria. I. Boaglio, Andrea, ed. II. Barichello, Vanesa, comp.
CDD 636.089

ISBN 978-987-702-552-1



Contenido y corrección: a cargo de autores y revisores
Diagramación y edición: Andrea Boaglio
Diseño y realización de tapas: Marcela Stella y Sofía Dalmagro

DESARROLLO DE DIETAS HÍBRIDAS A PARTIR DE HARINA INTEGRAL DE CHIA Y LINO CON POTENCIALES EFECTOS ANTIINFLAMATORIOS PARA RATONES DE EXPERIMENTACIÓN.

Colussi, Narella Antonina; Olea, Gabriela Beatriz; Todaro, Juan Santiago; Stoyanoff, Tania Romina; Aguirre, María Victoria.

Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste (LIBIM). narellacolussi@gmail.com

Las semillas de chía (*Salvia Hispánica*) y lino (*Linum usitatissimum L.*) son ingredientes alimentarios naturales ricos en ácidos grasos Omega-3 principalmente bajo la forma de ácido alfa-linolénico (ALA, $\omega 3$), sus potenciales efectos antiinflamatorios resultan un área de interés, el uso de las mismas bajo la forma de harinas integrales constituye un abordaje innovador. El ratón de laboratorio es una herramienta de estudio preeminente en la investigación experimental, una nutrición óptima y funcional favorece respuestas más eficientes ante los tratamientos aplicados con la consecuente obtención de resultados más objetivos basados en el efecto molecular favorecedor de los principios bioactivos de los ingredientes funcionales empleados para formular las dietas ¹. Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar dietas híbridas para ratones de experimentación a partir de harina integral de chia y lino ricas en ácidos grasos omega-3 ($\omega 3$) y de otros ingredientes naturales y comerciales en vista del potencial efecto antiinflamatorio de las harinas estudiado *in vivo e in vitro* en un modelo murino de inflamación sistémica inducido por LPS. Se formularon dos dietas híbridas según los requerimientos nutricionales acorde a la normativa internacional¹, su desarrollo se realizó a escala laboratorio bajo la forma de extrusados. Se analizó la composición centesimal, perfil lipídico y seguridad microbiológica de cada una de las dietas obtenidas. Seguidamente, se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos experimentales 30 ratones machos, de 28 días de edad, isogénicos de la cepa Balb/c ($n = 10/\text{grupo}$) y se alimentaron con el siguiente esquema: grupo 1: dieta A (control comercial), grupo 2: dieta B (harina integral de chia) y grupo 3: dieta C (harina integral de lino). El agua y los alimentos fueron provistos *ad libitum* durante 70 días (10 semanas). Los protocolos contaron con el aval del CICUAL Fac. Med UNNE (Resolución 0002-CICUAL/17). Se monitoreó semanalmente el peso de los animales, comportamiento, aspecto de pelaje y mucosas así como la cantidad de alimento consumido. Concluido el plazo se indujo estado inflamatorio sistémico mediante inyección intraperitoneal (i.p) de LPS (lipopolisacárido de *Escherichia coli* 0127: B8, Sigma) en dosis 1.5 mg/kg 6 horas antes del sacrificio² de la siguiente manera: en $n=5$ de cada grupo se indujo inflamación (inyección de LPS) y en $n=5$ de cada grupo no se indujo. Transcurridas 6 horas de la inducción, se anestesiaron a los animales con pentobarbital 10% y se realizó la eutanasia por dislocación cervical. Tras el sacrificio se esterilizó la zona abdominal con etanol 70%, realizando una incisión ventral para exponer el peritoneo. La cavidad se lavó con 3-5 ml de RPMI suplementado con 0.1 % gentamicina y se colectó en tubo Falcon de 15 ml en hielo. La proporción de macrófagos (MO) en la población celular peritoneal se determinó por tinción con α -naftilo que evaluó la presencia de la esterasa inespecífica para comprobación de recuperación de más del 90% de MO. Para diferenciar los monocitos a macrófagos, a la suspensión celular se adicionó 100 ng/ml de LPS gamma irradiado (Sigma) con incubación de 48hs hasta la completa diferenciación. Se determinó la expresión del factor de transcripción NF-kB en células procedentes de lavados i.p. tras estimulación con LPS (Anti-NF-kB p65 antibody – Santa Cruz Biotechnology). La inmunorevelación se realizó usando el kit DAKO LSAB + /HRP kit (DakoCytomation) seguido del Kit DAB/H2O2 (DakoCytomation) utilizado como cromógeno. La inmunofijación se valoró usando un microscopio óptico (Olympus BX40, Tokio, Japan). Por último, se realizó el ensayo de capacidad fagocítica de MO peritoneales mediante incubación con partículas de carbón coloidal a partir de MO peritoneales tras estimulación *in vitro* con LPS. Los resultados se analizaron utilizando el software INSTAT 6.0 y PRISM versión 6.0 (GraphPad Software, USA). Los resultados se expresan como la media \pm SD.

La composición centesimal de las dietas, su perfil lipídico y seguridad microbiológica se determinaron mediante análisis multiparamétricos encontrándose en rangos de normalidad. Las dietas experimentales B y C exhibieron una adecuación nutricional óptima evidenciada en un estado nutricional óptimo con pesos correspondientes a los valores de referencia para la cepa, sexo y edad¹, aspecto normal de pelaje, mucosas y de comportamiento. La fagocitosis de macrófagos murinos estimulados con LPS *in vitro* disminuyó significativamente en animales que recibieron las dietas B y C, esto se encuentra en consonancia con lo hallado por Saray Gutierrez et al ³.

Paralelamente, la expresión nuclear del factor NF- kB (p65) en macrófagos peritoneales disminuyó en muestras de animales que recibieron las dietas B y C con respecto al control (Figura 1), esto se encuentra acorde a los hallazgos de Araujo de Miranda et al ⁴. En conclusión, este estudio describe el desarrollo, evaluación de la adecuación nutritiva de dos dietas experimentales híbridas para murinos

basadas en harina integral de chia y lino. Las formulaciones demostraron de manera preliminar tener efectos antiinflamatorios cuyas bases quedan sentadas para continuar su estudio.

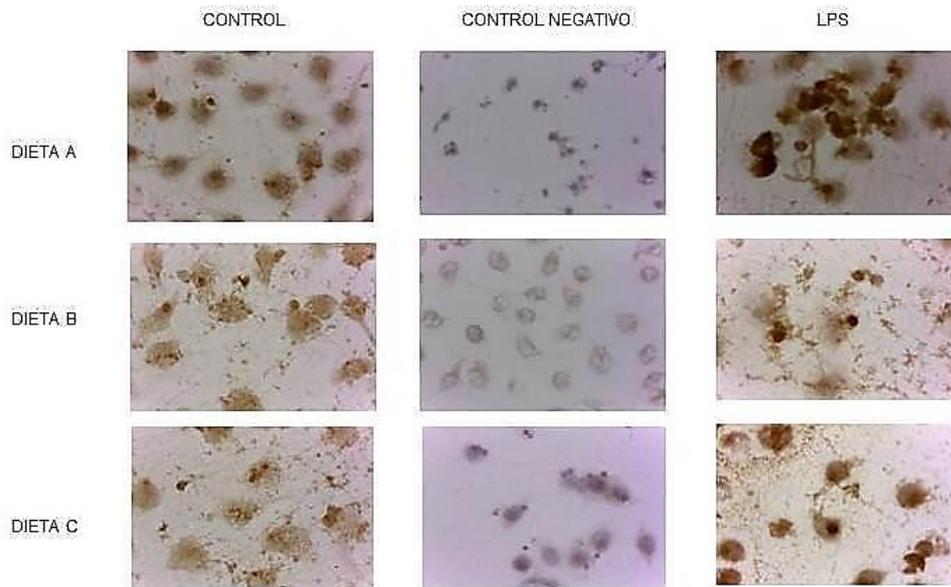


FIGURA 1. Expresión del factor de transcripción NF-κB en células procedentes de lavados i.p. estimuladas *in vitro* con LPS.
Se muestran microfotografías representativas de la expresión de NF-κB en células procedentes de cultivos de macrófagos peritoneales de animales alimentados con las dietas experimentales estimulados *in vitro* con LPS. Magnificación X100 X 400.

Referencias Bibliográficas

1. National Research Council (US) Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition. (1995). Nutrient Requirements of Laboratory Animals. Fourth Revised Edition. Washington (DC). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK231918/>
2. Chang-Bum A, Jae-Young J. (2012). Anti-inflammatory Activity of the Oriental Herb Medicine, Arisaema cum Bile, in LPS-Induced PMA-Differentiated THP-1 Cells. Journal Immunopharmacology and Immunotoxicology. 34 (3). Doi: 10.3109/08923973.2011.608683
3. Saray Gutiérrez S, Svahn S, Johansson ME. (2019). Effects of Omega-3 Fatty Acids on Immune Cells. International Journal of Molecular Sciences. 20(20). Doi: 10.3390/ijms20205028
4. Araujo de Miranda D, Pinheiro da Silva F, Carnier M, Vales Mennitti L, Galvão Figuerêdo R, Losinskas Hachul AC, Boldarine VT, Pinto Neto N, Seelaender M, Beraldi Ribeiro E, Oller do Nascimento C, Carnier J, Missae Oyama L. (2019). Chia flour (*Salvia hispanica* L.) did not improve the deleterious aspects of hyperlipidic diet ingestion on glucose metabolism, but worsened glycaemia in mice. Food Research International. Doi:1016/j.foodres.2018.12.033