



UNIVERSITAT DE BARCELONA

DEPARTAMENT DE FISIOLOGIA (FARMÀCIA)

**EFFECTES DE LA SUPLEMENTACIÓ DIETÈTICA AMB
PROTEÏNES PLASMÀTIQUES SOBRE LES PROPIETATS DE
BARRERA I DE DEFENSA DE LA MUCOSA INTESTINAL EN UN
MODEL D'INFLAMACIÓ**

Programa de doctorat:
MEDICAMENTS, ALIMENTACIÓ I SALUT
Bienni 2001–2003

Directors:

Dra. Concepció Amat Miralles
Dr. Miquel Moretó Pedragosa

Tutora:

Dra. Trinitat Cambras Riu

Anna Pérez Bosque
Barcelona, gener 2005

Aquesta tesi ha estat subvencionada pel projecte "Immunoglobulin concentrates: Traditional compounds with functional applications in healthy feed and food products". Empresa finançadora: APC EUROPE, S.A., Granollers (Barcelona). Projecte gestionat per la Fundació Bosch i Gimpera de la Universitat de Barcelona. Referència FBG-301333 (Període: 2001-2004). El grup de Fisiologia i Nutrició Experimental també rep finançament del Programa de projectes per potenciar grups de recerca consolidats, Departament d'Universitats, Recerca i Societat de la Informació, Generalitat de Catalunya. Referències 1999SGR00271 i 2001SGR00142. Durant la seva realització, l'autora ha gaudit d'una beca de Col·laboració en projectes d'investigació de la Universitat de Barcelona (Període: 2000-2004). Aquesta tesi s'ha realitzat en el departament de Fisiologia (Farmàcia) en estreta col·laboració amb la Unitat de Citometria de Flux i Microscòpia Confocal dels Serveis Científico-Tècnics de la Universitat de Barcelona.

*Als meus pares, sense vosaltres això no
hagués estat possible.*

*A l'Albert per tantes i tantes hores robades,
per la teva estima i per la teva paciència*

Moltes vegades he pensat en aquest moment, i tot i que em semblava que mai hi arribaria, ara ja hi sóc! Sou moltes les persones que directa o indirectament heu col·laborat en la realització d'aquesta tesi. Des d'aquí us vull agrair la vostra ajuda a tots vosaltres:

Als meus directors de tesi, us he d'agrair la vostra supervisió i suport. Gràcies Miquel Moretó per l'oportunitat de formar part d'aquest grup, per la teva dedicació i per creure en mi. Gràcies Concepció Amat per transmetre'm la confiança que a vegades m'ha calgut per tirar endavant i per la teva entrega.

Joana Planas, gràcies per creure en mi des del primer dia i estimular la meua vocació investigadora. Gràcies per tenir sempre un espai per mi. Gràcies pels ànims, sobretot en el tram final de la tesi.

Richard Naftalin, it has been a pleasure to work and learn from you throughout the London-Barcelona collaborations.

Ricardo Casaroli, tú has estat una de les primeres persones que m'ha ensenyat a treballar al laboratori. Gràcies per donar-me valuosos consells que han resultat, al cap i a la fi, imprescindibles per poder dur a terme aquesta tesi.

Carme Pelegrí, gràcies pel teu suport en tants moments i per resoldre tants i tants dubtes. Gràcies per la teua paciència i per la teua atenció.

Montse Miró quants cafès ens hem pres juntes, són molts matins de rialles i confidències que dia a dia han forjat la nostra amistat dins i fora del laboratori.

A tots els membres del grup, a la Maria Vicario per mostrar-me i endinsar-me una mica més en el meravellós món dels limfòcits. Esther Cristià per la teua rialla franca, per l'alegria que sempre transmetes. Lluïsa Miró pel teu bon fer i per haver volgut ser una mica alumna meua. A en Carles Garriga i a en David Ricart pels ànims quan han calgut i per escoltar-me quan ho he necessitat. A la Laia González i a l'Emília Juan per tantes estones divertides dins i fora de la "Coffe-Room".

A tots els membres del departament i a tots els que ja han marxat gràcies per acollir-me en aquesta gran família, per la paraula amable, pel gest sol·lícit. A la Mar Crespi, a la Charo Abellán, a la Laura Calpe i a la Mari Sans per ser unes excel·lents companyes de taula i per tantes hores de conversa i rialles.

Gràcies Susana Castel pel teu suport en les tècniques de microscopia i fora d'elles. També us vull agrair a la resta de l'equip que forma la Unitat de Microscopia Confocal dels Serveis Científico-Tècnics de la Universitat de Barcelona, Raquel, Nieves, Jaume, Mònica i Montse.

A la gent de l'estabulari, gràcies per tantes ajudes que m'heu prestat i sobretot al Xavi que sempre has intentat resoldre els problemes que m'han sorgit.

Al Jaume, al Ricard i a la Charo de la Unitat de Citometria de Flux dels Serveis Científico-tècnics de la Universitat de Barcelona, per la seva ajuda en la part de l'estudi corresponent a la citometria de flux.

També vull agrair als pares de l'Albert el seu suport i l'interès que han mostrat per tot el que m'he proposat des de que em van conèixer.

Finalment, les darreres paraules són pels meus pares i per l'Albert, per les meves germanes i pel Miquel. Sense vosaltres res de tot això hagués estat possible. Gràcies per ser-hi sempre i saber en tot moment com em sento. Gràcies per ser com sou, per entendre'm, per escoltar-me, per estimar-me i confiar en mi de forma incondicional. Gràcies per tot. Aquesta tesi és se'ns dubte també vostra. No canviu mai. Us estimo.

Moltes gràcies a tots.

Index

ÍNDEX

ABREVIATURES	IX
I. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS	1
II. INTRODUCCIÓ	5
1. Fisiologia intestinal	7
1.1. Funció absortiva	8
Absorció de carbohidrats.....	8
Absorció d'aminoàcids	10
Absorció i secreció d'aigua i electròlits.....	11
1.2. Funció de barrera	13
Complexos d'unió	14
Regulació de les unions estretes i de les unions adherents.....	17
2. Sistema immunitari perifèric	17
2.1. Immunitat innata	18
2.2. Immunitat adquirida.....	18
Immunitat adquirida humoral	19
Immunitat adquirida cel·lular.....	19
2.3. Òrgans limfoides perifèrics.....	21
Ganglis limfàtics perifèrics	21
Melsa.....	21
Sistema immunitari associat a les mucoses	22
GALT organitzat	23
Plaques de Peyer	23
Agregats limfoides aïllats.....	25
Ganglis limfàtics mesentèrics.....	25
GALT difós	25
Limfòcits de la <i>lamina propria</i>	25
Limfòcits intraepitelials	26
Immunoglobulina A.....	27
Inducció i regulació de la resposta immunitària mucosal.....	30
Desenvolupament postnatal del sistema immunitari intestinal	32
3. Inflamació intestinal	33
3.1. Inflamació intestinal aguda.....	34

3.2. Enterotoxina B d' <i>Staphylococcus aureus</i>	36
4. Dieta i salut animal	37
4.1. Antibiòtics en l'alimentació dels animals de granja.....	37
4.2. Suplementació de dietes amb concentrat de plasma.....	39
4.3. Efecte de les dietes en un procés inflamatori	41
III. MATERIALS I MÈTODES	43
1. Animals	45
2. Posta a punt del model d'inflamació	45
2.1. Determinació de l'activitat mieloperoxidasa en mucosa de jejú	46
Obtenció de la mostra	48
Extracció de la mieloperoxidasa de la mucosa de jejú	48
Quantificació de l'activitat mieloperoxidasa	49
2.2. Determinació del contingut d'aigua en femtes.....	51
3. Dietes	51
4. Disseny experimental	52
5. Mesura de variables fisiològiques en sang i sèrum	53
5.1. Hemograma.....	53
5.2. Determinació d'immunoglobulines A i G en mucosa intestinal i en sèrum ...	54
Obtenció de les mostres	54
Determinació de la concentració d'immunoglobulines A i G	54
6. Aïllament i marcatge de poblacions limfocitàries	56
6.1. Aïllament de limfòcits de ganglis limfàtics del mesenteri.....	57
6.2. Aïllament de limfòcits de plaques de Peyer.....	57
6.3. Aïllament de limfòcits de melsa	59
6.4. Recompte i viabilitat de la suspensió cel·lular	60
6.5. Marcatge fenotípic de limfòcits per immunofluorescència	61
6.6. Anàlisi de les poblacions limfocitàries	63
Configuració del citòmetre de flux	64
7. Obtenció de vesícules de la membrana apical dels enteròcits	65
7.1. Aïllament de vesícules de membrana apical.....	66
7.2. Determinació de la concentració de proteïnes	67
7.3. Determinació de l'activitat sacarasa.....	68
7.4. Determinació de l'activitat ATPasa.....	69
8. Experiments de transport <i>in vitro</i>	70
8.1. Cinètica del transport de la D-glucosa.....	70

8.2. Estudis d'inhibició del transport de D-glucosa amb glucosamina i citocalasina B	72
8.3. Unió de florzina.....	72
8.4. Transport d'aminoàcids amb vesícules	73
9. Western Blot de l'SGLT-1	74
9.1. Preparació de la mostra	74
9.2. Preparació del gel i electroforesi.....	75
9.3. Transferència	76
9.4. Blocatge i immunodetecció.....	77
9.5. Densitometria.....	78
10. Immunolocalització	78
10.1. Fixació i crioprotecció de les mostres	79
10.2. Obtenció de les seccions histològiques	80
10.3. Marcatge de proteïnes de la unió estreta i del cinturó d'adhesió	80
10.4. Marcatge del transportador de glucosa depenent de sodi de tipus i (SGLT-1)	81
10.5. Visualització de les mostres i tractament de les imatges	82
11. Estudi de la permeabilitat capil·lar	84
12. Anàlisi estadística	85
IV. RESULTATS.....	87
1. Posta a punt del model d'inflamació	89
1.1. Experiments preliminars.....	89
Validació de l'extracció	89
Validació de la determinació de l'activitat mieloperoxidasa	90
1.2. Experiment 1	91
Contingut d'aigua en femtes	91
Activitat mieloperoxidasa	92
1.3. Experiment 2	92
Contingut d'aigua en femtes	92
Activitat mieloperoxidasa	93
1.4. Experiment 3	94
Evolució del pes i del consum de pinso	94
Contingut d'aigua en femtes	95
Activitat mieloperoxidasa	96

2. Efecte de la suplementació dietètica amb plasma animal i concentrats d'immunoglobulines sobre el model d'inflamació intestinal	97
2.1. Evolució del pes corporal i consum de pinso	97
2.2. Contingut d'aigua en femtes	98
2.3. Activitat mieloperoxidasa	99
2.4. Immunoglobulines A i G en sèrum i immunoglobulina a en mucosa intestinal	100
2.5. Variables hematològiques.....	100
2.6. Poblacions limfocitàries	101
Poblacions limfocitàries de les plaques de Peyer	101
Poblacions limfocitàries dels ganglis limfàtics mesentèrics	105
Poblacions limfocitàries de la melsa	108
2.7. Efecte del tractament amb SEB i de la suplementació dietètica sobre el transport de nutrients	110
Puresa de les vesícules de membrana apical.....	110
Efectes del tractament amb SEB i la suplementació dietètica amb SDAP o amb IC sobre el transportador SGLT-1	112
Cinètica del transport de D-glucosa.....	112
Unió específica a florizina	114
Western Blot del transportador SGLT-1	115
Immunolocalització del transportador SGLT-1	116
Efectes del tractament amb SEB i la suplementació dietètica amb SDAP o amb IC sobre el transport d'aminoàcids	119
2.8. Efecte del tractament amb SEB i la suplementació dietètica sobre la permeabilitat capil·lar	120
Establiment protocol Evans Blue	120
Efectes del tractament amb SEB i de la suplementació dietètica amb SDAP o amb IC sobre la permeabilitat capil·lar	121
2.9. Efecte del tractament amb SEB i de la suplementació dietètica sobre la permeabilitat epitelial	122
Efectes sobre l'expressió de ZO-1	122
Efectes sobre l'expressió de β -catenina	125
V. DISCUSSIÓ.....	129
VI. CONCLUSIONS	145
VII. BIBLIOGRAFIA	151

INDEX DE FIGURES

Figura II-1. Absorció intestinal de monosacàrids.....	9
Figura II-2. Absorció intestinal d'aminoàcids.	10
Figura II-3. Absorció i secreció intestinal d'electròlits	12
Figura II-4. Unió intercel·lular epitelial	15
Figura II-5. Unió estreta i unió adherent.....	16
Figura II-6. Teixit limfoide associat a l'intestí (GALT)	24
Figura II-7. Transport i funcions de la IgA.....	29
Figura II-8. Inducció i regulació de la resposta immunitària	32
Figura II-9. Reconeixement del pèptid antigènic i del superantigen	37
Figura III-1. Dissenys experimentals per a l'establiment de la pauta d'administració del SEB.....	47
Figura III-2. Disseny experimental.....	53
Figura III-3. Esquema d'un doble marcatge	61
Figura III-4. Citograma d'una suspensió cel·lular	65
Figura III-5. Imatge representativa de la immunolocalització de la ZO-1	83
Figura III-6. Imatge representativa de la immunolocalització del transportador SGLT-1 ..	84
Figura IV-1. Assaig de linealitat de la determinació de mieloperoxidasa	90
Figura IV-2. Assaig de linealitat de la determinació de mieloperoxidasa	90
Figura IV-3. Contingut d'aigua en femtes d'animals tractats amb 50 µg de SEB.....	91
Figura IV-4. Activitat mieloperoxidasa a mucosa de jejú d'animals tractats amb 50 µg de SEB.....	92
Figura IV-5. Contingut d'aigua en femtes d'animals tractats amb doble administració de 50 µg de SEB o amb administració única de 100 µg de SEB	93
Figura IV-6. Activitat mieloperoxidasa a mucosa de jejú d'animals tractats amb doble administració de 50 µg de SEB o amb administració única de 100 µg de SEB	93
Figura IV-7. Evolució del pes en animals tractats amb una doble administració de SEB en dos intervals diferents.....	94
Figura IV-8. Evolució del consum de pinso en animals tractats amb una doble administració de SEB en dos intervals diferents.....	95
Figura IV-9. Contingut d'aigua en femtes en animals tractats amb una doble administració de SEB en dos intervals diferents.....	95
Figura IV-10. Activitat mieloperoxidasa a mucosa de jejú d'animals tractats amb una doble administració de SEB en dos intervals diferents	96
Figura IV-11. Evolució del pes corporal d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC.....	98

Figura IV-12. Evolució del consum de pinso d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC.....	98
Figura IV-13. Contingut d'aigua en femtes d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC.....	99
Figura IV-14. Activitat mieloperoxidasa a mucosa de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	99
Figura IV-15. Imatge representativa d'una finestra d'adquisició de limfòcits de plaques de Peyer.....	101
Figura IV-16. Principals poblacions limfocitàries de les plaques de Peyer d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	103
Figura IV-17. Poblacions limfocitàries minoritàries de les plaques de Peyer d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	104
Figura IV-18. Poblacions limfocitàries activades de les plaques de Peyer d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	105
Figura IV-19. Imatge representativa d'una finestra d'adquisició de limfòcits de ganglis limfàtics mesentèrics	105
Figura IV-20. Principals poblacions limfocitàries dels ganglis limfàtics mesentèrics d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	107
Figura IV-21. Poblacions limfocitàries activades dels ganglis limfàtics mesentèrics d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	107
Figura IV-22. Imatge representativa d'una finestra d'adquisició de limfòcits de melsa..	108
Figura IV-23. Poblacions limfocitàries majoritàries de la melsa d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	109
Figura IV-24. Poblacions limfocitàries minoritàries de la melsa d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	110
Figura IV-25. Flux d'entrada de la D-glucosa a vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	113
Figura IV-26. V_{max} per a la D-glucosa i unió específica de florizina a vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	114
Figura IV-27. Correlació entre la V_{max} i la unió específica de florizina a vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	115
Figura IV-28. Western blot del transportador SGLT-1 en vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	116

Figura IV-29. Quantificació de les bandes del Western blot corresponents al transportador SGLT-1 en vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	116
Figura IV-30. Immunolocalització del transportador SGLT-1 a la membrana apical de vellositats de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	117
Figura IV-31. Quantificació global de la intensitat de fluorescència en la immunolocalització del transportador SGLT-1 a la membrana apical de vellositats de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	118
Figura IV-32. Quantificació per zones de la intensitat de fluorescència en la immunolocalització del transportador SGLT-1 a la membrana apical de vellositats de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	119
Figura IV-33. Extravasació intestinal d'Evans blue a animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	121
Figura IV-34. Immunolocalització de ZO-1 a vellositats de jejú d'animals 24 h després de la segona dosi de SEB i a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	123
Figura IV-35. Immunolocalització de ZO-1 a vellositats de jejú d'animals 48 h després de la segona dosi de SEB i a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	124
Figura IV-36. Quantificació de la intensitat de fluorescència de la immunolocalització de ZO-1 a vellositats de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	124
Figura IV-37. Immunolocalització de β -catenina a vellositats de jejú d'animals 24 h després de la segona dosi de SEB i a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	125
Figura IV-38. Immunolocalització de β -catenina a vellositats de jejú d'animals 48 h després de la segona dosi de SEB i a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	126
Figura IV-39. Quantificació de la intensitat de fluorescència de la immunolocalització de β -catenina a vellositats de jejú d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	127

INDEX DE TAULES

Taula III-1. Pautes d'administració del SEB	46
Taula III-2. Composició de les dietes experimentals	52
Taula III-3. Anticossos i mostres emprades en la determinació de les immunoglobulines A i G	56

Taula III-4. Anticossos emprats en el marcatge indirecte de les poblacions limfocitàries	62
Taula III-5. Anticossos emprats en el marcatge directe de les poblacions limfocitàries ...	63
Taula IV-1. Contingut d'immunoglobulines A i G a animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	100
Taula IV-2. Variables hematològiques d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC.....	101
Taula IV-3. Percentatges de les poblacions limfocitàries de plaques de Peyer d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	102
Taula IV-4. Percentatges de les poblacions limfocitàries de ganglis limfàtics mesentèrics d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	106
Taula IV-5. Percentatges de les poblacions limfocitàries de melsa d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	109
Taula IV-6. Puresa de les vesícules de membrana apical	111
Taula IV-7. Constants cinètiques del transport de la D-glucosa en vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	112
Taula IV-8. Captació de D-glucosa en presència i absència d'inhibidors de GLUT2 en vesícules de membrana apical d'animals inflamats (SEB)	114
Taula IV-9. Captació de L-Leucina, L-Lisina i L-Metionina a vesícules de membrana apical d'animals exposats a SEB i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDAP o amb IC	119
Taula IV-10. Extravasació d'Evans blue (EB) a diferents temps després de la segona dosi de SEB a duodè, jejú, ili i còlon	120

Abreviatures

AO	<i>Acridine Orange</i> ; Taronja d'acridina
APC	<i>Antigen Presenting Cell</i> ; Cèl·lules presentadores d'antigen
APS	<i>Ammonium Persulfate</i> ; Persulfat amònic
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> ; Albúmina sèrica bovina
CD4	Marcador de limfòcits T col·laboradors
CD8	Marcador de limfòcits T supressors/citotòxics
CD25	Marcador d'activació (Receptor IL-2)
CPE	<i>Clostridium perfringens Enterotoxin</i> ; Enterotoxina de <i>C. perfringens</i>
D-Gal	D-galactosa
D-Glc	D-glucosa
D-Fru	D-fructosa
DTT	<i>DiTioThreitol</i>
EB	Evans Blue
EBr	<i>Ethidium Bromide</i> ; Bromur d'etidi
ECL	<i>Enhanced ChemiLuminiscence</i>
EDTA-K	EtilenDiaminoTetraAcetat de potassi
EGF	<i>Epidermal Growth Factor</i> ; factor de creixement epidèrmic
FAE	<i>Follicle associated epithelium</i> ; epiteli associat al fol·licle
FCS	<i>Fetal Calf Serum</i> ; Sèrum fetal boví
FDA	<i>Food & Drug Administration EUA</i>
FITC	<i>Fluorescein Isothiocyanate</i> ; Isotiocianat de fluoresceïna
GALT	<i>Gut-Associated Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat a l'intestí
GLUT2	Transportador de glucosa tipus 2
GLUT5	Transportador de glucosa tipus 5
HEV	<i>High Endothelial Venules</i> ; Vènules endotelials altes

Abreviatures

HTAB	<i>Hexadecyl Trimethyl Ammonium Bromide</i>
IC	<i>Immunoglobulin Concentrate</i>
Ig	Immunoglobulina
IFN- γ	Interferó γ
IL	Interleucina
ILF	<i>Isolated Lymphoid Follicles</i> ; Fol·licles limfoides aïllats
JAM	<i>Junctional Adhesion Molecule</i>
MALT	<i>Mucosal-Associated Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat a les mucoses
MHCII	<i>Major Histocompatibility Complex Class II</i> ; Complex major d'histocompatibilitat de classe II
MPO	Mieloperoxidasa
NK	<i>Natural Killer</i> ; assassines naturals
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> ; Tampó fosfat salí
PE	<i>Phycoerythrin</i> ; Ficoeritrina
p-IgR	<i>poli-Immunoglobulin Receptor</i> ; receptor de poli-immunoglobulines
PKC	<i>Protein Kinase C</i> ; Proteïna cinasa C
p-NFF	para-nitrofenilfosfat
p-NF	para-nitrofenol
SAg	Superantigen
SDAP	<i>Spray-Dried Animal Plasma</i> ; plasma assecat per evaporació
SDS	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SEB	<i>Staphylococcus aureus Enterotoxin B</i> ; Enterotoxina B de <i>S. aureus</i>
SED	<i>SubEpithelial Dome</i> ; Volta subepitelial
SGLT-1	<i>Sodium GLucose Transporter</i> ; Transportador de glucosa associat a sodi
TCR	<i>T Cell Receptor</i> ; Receptor de cèl·lula T
TEMED	N,N,N,N'-tetrametil-etilendiamina

TGF- β	<i>Transforming Growth Factor-β</i> ; Factor de creixement transformant- β
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i> ; Factor de necrosi tumoral- α
UE	Unió Europea

I. Plantejaments i objectius

Els concentrats de plasma (SDAP) i d'immunoglobulines (IC) són suplementes dietètics destinats als animals de granja que han estat proposats com alternativa a l'ús dels antibiòtics com a promotors del creixement (Coffey i Cromwell, 1995). Un dels primers efectes descrits en els animals alimentats amb aquests suplementes és l'increment de la taxa de creixement (Kats *et al.*, 1994). Aquesta millora del creixement és deguda, en part, a que hi ha un augment del consum de pinso (Van Dijk *et al.*, 2001b; Coffey i Cromwell, 1995) i a que es produeix una menor estimulació del sistema immunitari. Aquesta hipòtesi està recolzada per estudis que demostren que una activació immunitària produeix una reducció en la ingesta d'aliments, així com un increment de la utilització dels nutrients per part de les cèl·lules del sistema immunitari (Williams *et al.*, 1997).

En les granges que utilitzen el concentrat de proteïnes plasmàtiques com a suplement dietètic també s'observa una reducció de la morbiditat i de la mortalitat dels animals (Morrill *et al.*, 1995; Quigley i Wolfe, 2003). Això es pot explicar pel fet que aquests concentrats contenen immunoglobulines i glicoproteïnes. Ambdós tipus de molècules actuen a la llum intestinal unint-se a microorganismes patògens, agregant-los i facilitant-ne la seva eliminació (Sánchez *et al.*, 1993; Mouricot *et al.*, 1990). Això queda palès en diferents estudis en què s'ha observat que els animals alimentats amb el pinso suplementat amb aquests concentrats, quan són exposats a patògens entèrics presenten símptomes de la infecció menys severs que els animals que no han rebut els concentrats (Bosi *et al.*, 2001; Nollet *et al.*, 1999a).

En vista d'aquestes observacions, ens vam plantejar estudiar l'efecte de la suplementació dietètica amb SDAP i amb IC sobre el sistema immunitari d'animals que patien una inflamació aguda. El primer objectiu va ser **establir la pauta adequada per obtenir un model d'inflamació aguda intestinal en rata**. Una vegada es va obtenir aquesta pauta es va procedir a **caracteritzar els efectes de la inflamació i dels suplementes dietètics sobre les principals poblacions del sistema immunitari associat a la mucosa intestinal (GALT)**, concretament les presents als teixits inductors del GALT (plaques de Peyer i ganglis limfàtics mesentèrics). Per tal d'estudiar els efectes sistèmics de la inflamació intestinal vam **analitzar també les poblacions de la melsa, l'hemograma i les concentracions sèriques d'IgA i d'IgG**.

La inflamació aguda és un procés de curta durada (hores o dies) caracteritzada per vasodilatació, edema i migració cel·lular (principalment de neutròfils) cap al teixit afectat (Maslinska i Gajewski, 1998). També s'hi observen alteracions de la permeabilitat epitelial (Nusrat *et al.*, 2000). Així doncs, ens vam plantejar com a següent objectiu **estudiar l'efecte de la suplementació dietètica amb SDAP o amb IC sobre la permeabilitat vascular i de l'epiteli intestinal en animals que presentaven un procés inflamatori intestinal**.

Per últim, donat que la mucosa intestinal desenvolupa un paper fonamental en l'absorció de nutrients, que sovint està alterada durant un procés d'inflamació intestinal (Argenzio *et al.*, 1990), i atesa la importància de l'absorció de nutrients per al desenvolupament d'animals joves, ens vam proposar el darrer objectiu que consisteix en **analitzar els efectes de la suplementació dietètica amb SDAP o amb IC sobre l'absorció de diferents nutrients, en animals que presentaven un procés inflamatori.**