



27-28-29 OCTUBRE ▶ VIRTUAL

II REUNIÓN CIENTÍFICA INTERNACIONAL VII REUNIÓN CIENTÍFICA REGIONAL VI CONGRESO NACIONAL DE

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ANIMALES DE LABORATORIO

"Promoviendo la cultura del cuidado en animales de laboratorio para mejorar los modelos preclínicos y la investigación traslacional"

ROSARIO ARGENTINA

ACTAS DEL CONGRESO

PROCEEDINGS



# Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio

Il Reunión Científica Internacional, VII Reunión Científica Regional y VI Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio / compilación de María Inés Oyarzábal; Mauricio Ariel Menacho Márquez. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires: AACyTAL-Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio, 2021. Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online ISBN 978-987-47524-0-6

1. Biociencias. 2. Animales de Laboratorio. 3. Veterinaria. I. Oyarzábal, María Inés, comp. II. Menacho Márquez, Mauricio Ariel, comp. III. Título.

CDD 636.0885



# Índice de Contenido

Pretacio (versión en español)
Prefácio (versión en portugués)
Preface (versión en inglés)6
Comités
Auspiciantes 8
Patrocinantes9
Conferencias10
Simposios15
Comunicaciones Libres30
Premiaciones y menciones
Área Diseño de Instalaciones, Equipamiento y Buenas Prácticas de Laboratorio   BPL33
Área Modelos Experimentales   MOE
Área Educación y Entrenamiento   EYE 64
Área Ética y Bienestar Animal   EBA66
Otras Áreas   OTA70
Política, Legislación y Regulaciones   PLR80

La Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL) tiene el agrado de invitarlos a participar de la "II Reunión Científica Internacional, VII Reunión Científica Regional y VI Congreso Nacional" que tendrá lugar del 27 al 29 de octubre de 2021, en formato virtual.

En esta oportunidad el lema del evento será "Promoviendo la cultura del cuidado de los animales de laboratorio para mejorar los modelos preclínicos y la investigación traslacional".

Este evento originalmente programado para mayo de 2020, suspendido a raíz de la pandemia de COVID-19, se desarrollaría por primera vez en la ciudad de Rosario, con sede en la Facultad de Ciencias Médicas - U.N.R., en coincidencia con el Centenario de su fundación.

No obstante, deseamos que la sede original y la idea primigenia permanezcan vigentes en este nuevo formato, dado que Rosario, reconocida en la actualidad como un Polo Científico y Tecnológico de relevancia, ha estado vinculada desde hace décadas a través de sus Facultades e Institutos de Investigación, a las Ciencias Biomédicas, donde el empleo de modelos animales ha tenido y tiene un rol preponderante.

AACyTAL pretende con esta decisión afirmar aún más su vocación de trabajar de manera participativa con todos aquellos que de un modo u otro están vinculados a nuestra actividad profesional en toda la República Argentina, siguiendo nuestros ideales de alcanzar una Ciencia de Animales de Laboratorio de calidad en todos sus aspectos.

Es nuestro objetivo reunir en nuestro Congreso a un amplio espectro de profesionales de nuestro país y del exterior, para compartir experiencias, analizar resultados y favorecer el siempre enriquecedor contacto con colegas, que abra las puertas a futuros proyectos de trabajo en común.

Tanto por la temática que se abordará, como por el importante número de participantes que asistirán y por los prestigiosos disertantes invitados, es que los convocamos a patrocinar este evento.

En nombre de nuestra Asociación, les damos una cálida bienvenida a todos los participantes, y un agradecimiento especial a todas las empresas que nos ayudarán con su inestimable aporte a alcanzar los ambiciosos objetivos que nos proponemos para este encuentro.

Dr. Ernesto Gulin | Presidente del Comité Organizador

Esp. Eliana Cicale | Presidenta de la AACyTAL

Dra. María Inés Oyarzabal | Presidenta del Comité Científico

A Associação Argentina de Ciência e Tecnologia de Animais de Laboratório (AACyTAL) tem o prazer de convidá-los a participar do "II Encontro Científico Internacional, VII Encontro Científico Regional e VI Congresso Nacional" que acontecerá de 27 a 29 de outubro de 2021, em formato virtual.

Nesta ocasião, o tema do evento será "Promover a cultura do cuidado de animais de laboratório para aprimorar modelos pré-clínicos e pesquisa translacional". Este evento originalmente previsto para maio de 2020, suspenso em decorrência da pandemia COVID-19, acontecería pela primeira vez na cidade de Rosário, com sede na Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nacional de Rosário UNR, coincidindo com o Centenário de sua fundação.

Desejamos que a sede e a ideia original permaneçam válidas neste novo formato, tendo em conta que a cidade de Rosário, hoje reconhecida como um relevante pólo científico e tecnológico, está ligada há décadas às Ciências Biomédicas, por meio de suas Faculdades e Institutos de Pesquisa, onde o uso de modelos animais teve, e tem um papel preponderante.

AACyTAL procura com esta decisão afirmar ainda mais sua vocação de trabalhar participativamente com todos aqueles que de uma forma ou de outra estão vinculados à nossa atividade profissional em toda a República Argentina, seguindo nossos ideais de alcançar uma Ciencia de Animais Laboratório de qualidade em todos os seus aspectos.

É o nosso objetivo reunir no Congresso um amplo espectro de profissionais do nosso país e do exterior, para compartilhar experiências, analisar resultados e favorecer o contato sempre enriquecedor com os colegas, o que abre as portas para futuros projetos de trabalho conjunto.

Tanto pelo tema que será abordado, como também pelo alto número de participantes que estarão presentes e pelos prestigiosos palestrantes convidados, estamos convidando você a patrocinar este evento.

Em nome da nossa Associação, damos as boas-vindas a todos os participantes, e um agradecimento especial a todas as empresas que nos ajudarão com a sua inestimável contribuição para a concretização dos ambiciosos objetivos que propomos para este encontro.

Dr. Ernesto Gulin | Presidente do Comitê Organizador

Esp. Eliana Cicale | Presidente da AACyTAL

Dra. María Inés Oyarzabal | Presidente do Comitê Científico

The Argentine Association of Laboratory Animals Science and Technology of (AACyTAL) is pleased to invite you to participate in the "II International Scientific Meeting, VII Regional Scientific Meeting and VI National Congress" that will take place from October 27 to 29, 2021, in virtual format. On this occasion, the event's slogan will be "Promoting the culture of laboratory animal care to improve preclinical models and translational research."

This event, initially scheduled for May 2020 and suspended as a result of the COVID-19 pandemic, would take place for the first time in the city of Rosario, based at the Faculty of Medical Sciences of the National University of Rosario (UNR), coinciding with the Centennial of its foundation.

However, we hope that the original venue and concept remain valid in this new format, since Rosario, currently recognized as a relevant Scientific and Technological Pole, has been linked for decades to Biomedical Sciences through its Faculties and Institutes of Research, where the use of animal models has had and has a dominant role.

AACyTAL intends with this decision to affirm its vocation further to work in a collaborative manner with all the people involved to our professional activity throughout the Argentine Republic, following our ideals of achieving quality Laboratory Animal Science in all its aspects.

Our objective is to bring together in our Congress a broad spectrum of professionals from our country and abroad, to share experiences, analyse results and favour the enriching contact with colleagues, which opens the doors to future joint work projects.

On behalf of our Association, we warmly welcome all participants. Special thanks to all the companies that will help us with their invaluable contribution to achieving the ambitious objectives that we set for this meeting.

Dr. Ernesto Gulin | President of the Organizing Committee

Esp. Eliana Cicale | President of the AACyTAL

Dra. María Inés Oyarzabal | President of the Scientific Committee

# >> Comisión Directiva AACyTAL 2020/2022

Presidente: Eliana Cicale

Vicepresidente: Gabriel Pinto

Secretaria: Mariana Ríos

Prosecretaria: Marianela Lewicki

Tesorero: Ernesto Gulin

Protesorera: Graciela Lammel

Vocales Titulares:
Marcelo Asprea
Gustavo Chapo
Juan Martín Laborde
Mónica Lammer
Fabricio Maschi
Natalia Salvetti

Vocales Suplentes: Eduardo Caturini Gabriela Salvador

Comisión Revisora de Cuentas:

Titular:

María Angélica Miranda

Suplente:

Federico V. Alloatti

# >> Comité Organizador

Presidente: Ernesto Gulin

Integrantes:

Gustavo Francisco Chapo Mauricio Menacho Márquez

Federico V. Alloatti

Cecilia Farré Eliana Cicale Gabriel Pinto Graciela Lammel Marianela Lewicki Mariana Ríos

# >> Comité Científico

Presidente:

María Inés Oyarzabal

Integrantes:

Mauricio Menacho Márquez

Ana Rosa Pérez María Delia Vasconi Eliana Cicale

Marcela Rebuelto Marcelo Asprea Eduardo Caturini Hugo Ortega

## >> Jurados de Premios

Marcelo Asprea Monica Lammer Marianela Lewicki Gabriela Salvador Marina Snitcofsky

# **Auspiciantes**























































# Conferencias

### CONFERENCIA INAUGURAL

LO POLIFACÉTICO DE LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA. UNA HISTORIA DE CORRESPONDENCIAS, DISCORDANCIAS Y ALGUNA QUE OTRA DESVENTURA THE MULTIFACETED BIOMEDICAL RESEARCH. A STORY OF CORRESPONDENCES, DISAGREEMENTS AND SOME OCCASIONAL TROUBLE

### Bottasso, O.A.

Instituto de inmunología clínica y experimental de Rosario (IDICER, UNR-CONICET), Argentina. bottasso@idicer-conicet.gob.ar

A partir de aquella aseveración Aristotélica que a las cosas se las conocen por sus causas, la investigación biomédica viene tratando de elucidar los procesos subvacentes a la generación de enfermedades con miras a lograr mejores pautas de control. Al buscar explicaciones, las preguntas sobre causalidad son diversas: esta exposición, ¿qué daños causa?; a este daño, ¿qué exposiciones lo provocan?; o bien ¿en qué medida coexisten factor y daño? Tales planteos implican la realización de estudios clínicos y otros basados en modelos experimentales que constituyen herramientas muy útiles como pruebas de concepto. Desentrañado alguno que otro mecanismo, sobrevienen los estudios intervencionistas, por ejemplo, el desarrollo de nuevos fármacos o vacunas, obtención de biomarcadores, procedimientos bioestadísticos complejos para el caso de los biobancos, farmacogenómica y la tan en boga medicina de precisión. En cada una de estas instancias conviven, el punto de vista hipotético, por el cual lo existente a partir de los estudios experimentales se reproducirá en el campo clínico; y el observacional donde lo constatado en los pacientes es lo que en "realidad" existe. Un aprieto que impone reducir el error a su mayor expresión posible, para aumentar el nivel de certeza de ambas visiones y así confrontar con el mundo real resultante de una complejidad evolutiva con muchos componentes interactivos desafiantes de nuestra imaginación y capacidad de análisis. En el interregno, cuando las consecuencias observacionales de una hipótesis se corroboran reiteradamente dejamos de proseguir con las contrastaciones y admitimos que la teoría es válida, en tanto no se produzca un hecho refutatorio. La concepción que la realidad se revela en la medida que poseamos mejores herramientas para aprehenderla y los conceptos capaces de abordarla, nos propulsa a seguir adelante, puesto que los frutos de la ciencia como creación humana son bien visibles. Palabras claves: investigación clínica y experimental.

# MODELOS EXPERIMENTALES DE ISQUEMIA CEREBRAL EXPERIMENTAL MODELS OF CEREBRAL ISCHEMIA

### Robert, M.C.

crobert@conicet.gov.ar

Centro Binacional (Argentina- Italia) de Investigaciones en Criobiología Clínica y Aplicada CAIC, UNR-CONICET. Argentina.

El accidente cerebrovascular (ACV) es la segunda causa de muerte y discapacidad en el mundo, además de causar grandes consecuencias emocionales y socioeconómicas para los pacientes, familias y servicios de salud. Debido a esta alta morbilidad y mortalidad, durante los últimos 40 años, numerosos modelos animales han sido desarrollados para replicar los diversos aspectos del ACV humano con el objetivo de comprender mejor las respuestas fisiopatológicas subyacentes y explorar potenciales tratamientos. Los ACV pueden clasificarse en dos tipos específicos: los hemorrágicos, causados por la ruptura de un vaso sanguíneo, y los isquémicos causados por la obstrucción de una arteria cerebral (15 y 85% de todos los casos, respectivamente). En la actualidad, con excepción de las terapias de reperfusión (trombolítica y trombectomía), no existen otros tratamientos capaces de reducir el daño isquémico y el déficit neurológico observado en los pacientes. A pesar, de que varias estrategias terapéuticas han sido evaluadas utilizando modelos animales (principalmente la rata), las mismas no han obtenido buenos resultados en ensayos clínicos. Esta falla en los ensayos clínicos puede deberse en gran parte a la heterogeneidad del ACV y a las comorbilidades (edad, diabetes, hipertensión, etc.) observadas en el humano. Para que una terapia sea trasladada exitosamente a un ensayo clínico, su eficacia preclínica debería ser determinada en diferentes modelos y especies de animales. La selección de un modelo animal de isquemia cerebral, preciso, efectivo,

reproducible y clínicamente relevante es de suma importancia. La mayoría de la investigación *in vivo* ha sido realizada en roedores utilizando los modelos de oclusión de la arteria cerebral media (MCAO, *middle cerebral artery occlusion*) y embólico. A pesar que estos modelos presentan numerosas ventajas (bajo costo, una gran caracterización fisiológica), así como la posibilidad de investigar comorbilidades y manipulaciones genéticas, gran atención debe prestarse a factores críticos como la selección de la anestesia; mantenimiento, sexo, edad y especie utilizada.

Palabras claves: ACV, isquemia, modelos.

# THE CALL OF THE WILD IS LOST IN TRANSLATION: ANIMALS, MODELS, SCIENCE, AND WHAT WE DON'T KNOW

LA LLAMADA DE LA NATURALEZA SE PIERDE EN LA TRADUCCIÓN: ANIMALES, MODELOS, CIENCIA Y LO QUE NO SABEMOS.

# Pritchett-Corning, K.R.

DVM, DACLAM. Director, Office of Animal Resources, and Attending Veterinarian, Harvard University Faculty of Arts and Sciences pritchettcorning@fas.harvard.edu

For the first time, the seriousness of the reproducibility and translatability crisis is widely understood beyond the small cadre of researchers who have been studying it and the pharmaceutical and biotech companies who have been living it. An emerging literature has begun to solidify around a set of recurring themes, which represent a paradigm shift. When examined closely, this paradigm shift is a move from asking "What have we controlled for in this model?" to asking "What have we chosen to ignore in this model, and at what cost?" Drawing back to view the concept more broadly, it is a shift from viewing animals solely as tools or reagents (the furry test tube), to instead attempting to position them as patients in an equivalent human medical study. My colleagues and I termed this new discipline therioepistemology, or the study of how knowledge is gained from animal research. In this talk, I will outline six questions that serve as a heuristic for critically evaluating animal-based biomedical research from a therioepistemological perspective.

# THE BETA ENAC MOUSE AS A MODEL OF CYSTIC FIBROSIS DRUGS DEVELOPMENT TREATMENT

# EL RATÓN BETA ENAC COMO MODELO PARA EL DESARROLLO DE DROGAS PARA FIBROSIS QUÍSTICA

### Sesma, J.I.

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER). Argentina. sesma@rosario-conicet.gov.ar

Cystic fibrosis (CF) lung disease is caused by the loss of function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) combined with hyperactivation of the epithelial sodium channel (ENaC). In the lung, ENaC is responsible for movement of sodium. Hyperactivation of ENaC, which creates an osmotic gradient that pulls fluid out of the airway, contributes to reduced airway hydration, causing mucus dehydration, decreased mucociliary clearance, and recurrent acute bacterial infections. ENaC represents a therapeutic target to treat all patients with CF independent of their underlying CFTR mutation. Based on the lines of evidence showing that the expression and function of ENaC were inversely associated with lung function in CF patients, the beta ENaC mouse is a valuable tool to investigate the efficacy of drugs *in vivo*. Palabras claves: cystic fibrosis, ENaC, CFTR.

# ANIMALES DE LABORATORIO: DESAFÍOS GLOBALES PARA UNA CIENCIA EN CONSTANTE CAMBIO

LABORATORY ANIMALS: GLOBAL CHALLENGES FOR A CONSTANTLY CHANGING SCIENCE

### Carbone, C.

Laboratorio de Animales de Experimentación, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

cecicarbo15@gmail.com

El uso de animales en investigaciones científicas es sin duda un tema controversial. El argumento básico es simple: la investigación con animales ha producido avances en el conocimiento científico que han impactado en el mejoramiento de vidas humanas y animales, sin embargo, los procedimientos empleados pueden causar angustia, estrés y dolor en los animales involucrados. Este planteo sencillo ha hecho que se generen constantes cambios en los estándares internacionales referidos a su uso y cuidado. Los cambios se han centrado fundamentalmente en tres aspectos: la ética, el bienestar y la validez de los resultados. La ética comprende los valores morales y el espacio en el cual se evalúa la importancia y la necesidad científica de realizar experiencias con animales; el bienestar, el cual se puede tomar como concepto o como una rama de la ciencia, en síntesis, es un estado mensurable en un animal que se relaciona con la capacidad de este para hacer frente a su entorno y en el cual los aspectos éticos tienen mucha implicancia. Se incluyen la condición de salud, el alojamiento, el comportamiento, contemplados en las cinco libertades y en el principio de las 3 Rs: reducción, refinamiento y reemplazo. El bienestar animal y el bienestar humano son interdependientes, por lo que se considera como "un bienestar". La calidad sanitaria y genética de los animales ha provocado la aparición de cambios en algunos cuestionamientos éticos. Los animales genéticamente modificados y los nuevos microorganismos y aquellos emergentes, han determinado la inclusión de pautas y recomendaciones en los estándares internacionales, los cuales todo investigador usuario de animales tiene la obligación de conocer. De la implementación de estos conceptos dependerá, en gran parte, la validez científica de los resultados experimentales.

Palabras clave: estándares, bienestar, ética.

### **CONFERENCIA DE CIERRE:**

# GOOD EXPERIMENTAL DESIGN IN ANIMAL STUDIES: WHY IT MATTERS AND RESOURCES TO HELP

BUEN DISEÑO EXPERIMENTAL EN ESTUDIOS ANIMALES: POR QUÉ ES IMPORTANTE Y RECURSOS PARA AYUDAR

### Barkus. C.

The NC3Rs (National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research).

chris.barkus@nc3rs.org.uk

There is growing concern about the reliability of biomedical research results. Poor experimental design, inappropriate analysis methods and incomplete reporting have all contributed to inconsistent results. This makes for less reliable and reproducible research, complicating our interpretation of published literature. Furthermore, these poorly conducted studies represent an unethical waste of animal lives if the results yielded are not reproducible. This talk will begin by discussing the current reproducibility crisis, why it is a problem, and ways that we may be able to address it. This will include presenting the major areas of concern in how studies involving the use of animals are currently conducted, namely that fundamental steps such as randomization, blinding, and justification of sample size are often not conducted or reported. Ways that these steps can be implemented practically will be discussed as will relevant resources from the NC3Rs, the UK's National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. These resources, namely the Experimental Design Assistant (EDA) and ARRIVE guidelines, were developed to assist in the designing rigorous experiments, selecting the appropriate analysis methods, and the reporting

# **Conferencias**

of experiments thoroughly. This enable researchers to conduct robust studies and include all the details required to replicate their results once published. This talk will also highlight local initiatives to further involve animal house staff in the blinding of experiments, improving the robustness of the work performed. Overall, the goal of this work and the use of these resources is to yield robust and reproducible data while using the minimum number of animals consistent with the scientific objectives.

Key words: 3Rs, experimental design.

# Simposios

### SIMPOSIO:

# HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS PARA IMÁGENES EN TIEMPO REAL APLICADAS A INVESTIGACIÓN PRECLÍNICA BIOTECHNOLOGY TOOLS FOR REAL TIME IMAGING IN PRECLINICAL RESEARCH

Coordinador: Ortega, H.

Centro de Medicina Comparada ICiVet-Litoral - UNL-CONICET, FCV-UNL. Esperanza. Argentina. hhortega@fcv.unl.edu.ar

El descubrimiento de un nuevo fármaco implica el estudio de los procesos de síntesis, aislamiento de una fuente natural o la obtención biotecnológica, la caracterización de su actividad y toda la fase preclínica, de manera tal que nos confirmen que el compuesto es aceptable en cuanto eficacia y seguridad para su ensayo en seres humanos. En este contexto, el uso de bioimágenes durante el desarrollo preclínico constituye una herramienta fundamental para mejorar la eficiencia del proceso de desarrollo de nuevos medicamentos y permiten reducir el número de animales requeridos en estudios longitudinales, así como incrementar los datos obtenidos de cada animal. En este simposio abordaremos diferentes ejemplos de aplicación de estudios de imágenes in vivo, incluyendo luminiscencia, fluorescencia y ecografía.

# BIOIMÁGENES: HERRAMIENTAS APLICABLES A ENSAYOS PRECLÍNICOS COMPLEJOS PARA EL DESARROLLO DE NUEVAS TERAPIAS BIOIMAGING AS A TOOL FOR THE DEVELOPMENT OF COMPLEX PRECLINICAL MODELS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW THERAPIES

Ortega, H.

Centro de Medicina Comparada ICiVet-Litoral - UNL-CONICET, FCV-UNL. Esperanza. Argentina. hhortega@fcv.unl.edu.ar

Las técnicas más recientes disponibles para obtener imágenes in vivo en tiempo real de la distribución de fármacos y su metabolismo brindan una oportunidad única y temprana para caracterizar rápidamente nuevas moléculas. Esta área de investigación de frontera es tan importante que día a día se presentan nuevos equipos y tecnologías que permiten la visualización, caracterización y medición de procesos biológicos en sistemas vivos. En la última década, se ha reconocido cada vez más como una importante herramienta de investigación clínica y preclínica que se puede utilizar para acelerar el proceso de desarrollo de fármacos. El uso de imágenes in vivo durante el desarrollo preclínico es una herramienta fundamental para mejorar la eficiencia de estudios farmacológicos y permitir reducir el número de animales requeridos en los estudios longitudinales, así como aumentar los datos obtenidos de cada animal. Por otra parte, a diferencia de los modelos in vitro, los modelos in vivo brindan una herramienta valiosa para el análisis de la dinámica de modelos de enfermedades y son de gran relevancia para la evaluación integral de la seguridad y eficacia. Para demostrar su utilidad en el desarrollo de nuevas terapias, presentamos un ejemplo de la aplicación de esta tecnología en ensayos preclínicos, para determinar características farmacocinéticas de un fragmento F(ab')2 específico de RBD de SARS-CoV-2 derivado de anticuerpos policionales equinos. Analizamos su biodistribución mediante imágenes NIR in vivo y ex vivo después de la administración intravenosa, determinando su ubicación y permanencia en los órganos diana que son de interés para COVID-19.

Palabras clave: bioimágenes, preclínica, modelos.

# MURINE MODEL OF HEPATIC CYSTIC ECHINOCOCCOSIS: ULTRASOUND MONITORING OF CYST DEVELOPMENT

MODELO MURINO DE ECHINOCOCCOSIS QUÍSTICA HEPÁTICA: SEGUIMIENTO POR ECOGRAFÍA DEL DESARROLLO QUÍSTICO

# Elissondo, M.C.; Pensel, P.E.

Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, Universidad Nacional de Mar del Plata, CONICET, Buenos Aires, Argentina. c.elissondo@gmail.com

Hydatidosis or cystic echinococcosis (CE), caused by the metacestode *Echinococcus granulosus*, is characterized by the presence of cysts in different organs and tissues, but liver and lungs being the main locations. The search for therapeutic alternatives to optimize the treatment of CE is performed at two levels: *in vitro* on the larval stage and *in vivo* in mice infected intraperitoneally with *E. granulosus* protoscoleces. In the current murine model of CE, the cysts are located in the peritoneal cavity. In order to establish a new murine model presenting similar characteristics to the disease in humans, we infected CF-1 mice via the portal vein. In this new model, the cysts developed in the orthotopic and primary infection organ. Ultrasonography was used to monitor the development, the growth and the localization of the cysts in the liver of infected mice. In this presentation, we discuss the advantages and disadvantages of ultrasonography to follow the experimental hepatic CE in mice. Palabras clave: cystic echinococcosis, murine model, ultrasonography.

# IMPACTO DE TÉCNICAS DE IMÁGENES IN VIVO EN EL REFINAMIENTO DE MODELOS PRECLÍNICOS MURINOS.

# IMPACT OF IN VIVO IMAGING TECHNIQUES ON PRECLINICAL MOUSE MODEL REFINEMENT Arévalo, A.P.; Crispo, M.

Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación, Instituto Pasteur de Montevideo. Uruguay. aparevalo@pasteur.edu.uy

Los estudios por técnicas de imágenes utilizadas en investigación permiten realizar evaluaciones de procesos bioquímicos y biológicos en animales vivos de manera no invasiva, en tiempo real y longitudinal en diferentes etapas de vida o de la evolución de estadios patológicos. Con gran impacto en áreas como oncología, el desarrollo de terapias e incluso muy utilizadas en el fenotipado y caracterización de modelos murinos transgénicos, se ha generado un puente veloz y efectivo entre los ensayos preclínicos y clínicos. Otra ventaja es que permiten un refinamiento en el uso de animales a través de la optimización de criterios determinantes del punto final humanitario y proporcionan más información de cada individuo, lo que implica una reducción en el número de animales a ser utilizado. Permiten mejoras muy significativas en relación a la bioseguridad, ya que son una alternativa eficaz y segura para sustituir algunas técnicas cruentas de toma de muestras en animales con agentes patógenos. Existen, sin embargo, importantes consideraciones en la preparación del animal para dichos estudios que deben ser tenidas en cuenta al momento de realizarlos, ya que tienen una influencia directa sobre el resultado de los mismos: cepa, sexo, ayuno, dietas, manipulación, stress, ritmo circadiano, depilación, agentes anestésicos, entre otros. En el Instituto Pasteur de Montevideo se vienen desarrollando técnicas para el refinamiento de protocolos experimentales basados en imágenes in vivo de Luminiscencia/Rx y Fluorescencia/Rx, principalmente en protocolos de investigación en: T. cruzi, T. brucei, inducción y desarrrollo tumoral, pruebas de funcionalidad de nanomoléculas, así como pruebas con terapias asociadas. Estas técnicas nos han permitido refinar los procedimientos, mejorando el grado de bienestar animal durante los experimentos y la seguridad de los investigadores, así como mejorar tiempos y cantidad de datos obtenidos en los estudios preclínicos. Palabras claves: murino, imágenes, refinamiento.

### SIMPOSIO:

# ¿ANIMALES DE LABORATORIO GENÉTICAMENTE ESTANDARIZADOS O MODIFICADOS?

### **GENETICALLY STANDARDIZED OR MODIFIED LABORATORY ANIMALS?**

Coordinadora: Oyarzabal, M.I.

Centro de Investigación con Animales de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR. Argentina. moyarzab@unr.edu.ar

Los ratones y ratas han sido utilizados ampliamente como modelos experimentales en enfermedades humanas y/o animales. Los primeros también como modelos en mejoramiento genético animal. Comparten con el hombre un elevado porcentaje de sus genes y enfermedades hereditarias mono y poligénicas. Tienen otras ventajas frente a otros mamíferos: corto intervalo generacional, bajo costo de mantenimiento y pequeño tamaño. Desde hace más de 100 años cuando se fundó la primera cepa endocriada de ratones, se han multiplicado las cepas disponibles (endo y exocriadas), líneas, cruzas, transgénicos, etc. que contribuyen al entendimiento de las bases genéticas y moleculares de las enfermedades humanas y de los procesos biológicos, más recientemente, al análisis de las enfermedades complejas influenciadas por múltiples genes más las interacciones con el ambiente, a la búsqueda de genes o regiones génicas que tengan una influencia importante en una enfermedad (QTL). La disponibilidad de genotipos es muy amplia, en algunos casos, muy específica para el estudio de determinada enfermedad. Hay situaciones en las cuales se necesita tener líneas altamente endocriadas para contar con individuos genéticamente muy parecidos, en otros casos, es necesario que sean congénicas o recombinantes, o poblaciones con una base genética muy amplia, o que presenten una mutación particular. Se trata de elegir la o las cepas más apropiadas, de modificar genéticamente alguna de ellas o de fundar nuevas por selección artificial. Este último caso ha dado origen a modelos experimentales con resultados trasladables a animales de interés económico sobre caracteres productivos. En este simposio presentaremos tres situaciones diferentes: cuando es necesario contar con animales genéticamente estandardizados y controlar su pureza, cuando se realiza una modificación genética mediante CRISPR o cuando el experimento consiste en la formación de líneas por endocría y selección fenotípica.

# MONITOREO GENÉTICO EN RATONES Y RATAS DE LABORATORIO GENETIC MONITORING IN LABORATORY MICE AND RATS

### Benavides, F.

M.D. Anderson Cancer Center, Smithville, Texas, USA. fbenavid@mdanderson.org

En estos tiempos dónde la genómica, la fenotipificación y la manipulación genética del ratón y la rata de laboratorio progresan día a día, se hace imprescindible estandarizar y controlar la calidad genética de los animales utilizados. No sólo el control y la preservación de la calidad genética deben ser prioritarios, sino también concientizar a los investigadores sobre la influencia del fondo genético en sus modelos y la existencia de diferencias genéticas marcadas entre sub-cepas de líneas consanguíneas estándar. En base a estos hallazgos, empezó a prestarse más atención a la influencia que pueden tener los distintos fondos genéticos en los fenotipos, particularmente en los modelos de ratones transgénicos, KO y KI, inclusive los generados por edición genómica (CRISPR/Cas). Desde finales de la década de 1990 se han publicado muchos reportes sobre esta influencia en ratas y ratones, los cuales discutiré en mi presentación, incluyendo diferencias importantes entre sub-cepas, por ejemplo, C57BL/6N (NIH) versus C57BL/6J (Jax), y la presencia de mutaciones "pasajeras" que pueden afectar el fenotipo. Finalmente, presentaré distintas formas de controlar la pureza de una cepa utilizando marcadores (microsatélites y SNPs) y discutiremos cómo prevenir y mejorar esta situación.

Palabras clave: controles genéticos, cepas consanguíneas, fondo genético, ratas y ratones de laboratorio.

# RATONES GENÉTICAMENTE MODIFICADOS POR SELECCIÓN FENOTÍPICA GENETICALLY MODIFIED MICE BY PHENOTYPIC SELECTION

# Oyarzabal, MI.

Centro de Investigación con Animales de Laboratorio. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR. Argentina. moyarzab@unr.edu.ar

Desde los comienzos de la domesticación, cuando el hombre comenzó a manejar la cría de los animales seleccionó los reproductores fenotípicamente. Primero por caracteres de comportamiento, luego para alta producción, más tarde para alta eficiencia, mayor fertilidad y resistencia a enfermedades. La selección se llevaba a cabo sin conocer las bases genéticas de los caracteres productivos. A partir de los experimentos realizados por Goodale (1938) que probaron la posibilidad de seleccionar por peso corporal en el ratón y obtener animales más pesados, son numerosos los trabajos experimentales publicados con respecto a los límites de la selección, interacción genotipoambiente, efectos maternos, consecuencias de la selección, respuestas correlacionadas, etc. Se fundaron cepas y líneas endocriadas y seleccionadas. En este caso, el experimento consistía en observar lo que ocurre durante el proceso de selección y endocría para luego trasladarlo a animales de interés económico. Generalmente se partía del cruzamiento de varias líneas o cepas para comenzar con una base genética amplia, perdiendo variabilidad genética durante el proceso selectivo. En todos los casos, la selección fenotípica condujo a obtener líneas o cepas genéticamente modificadas. Realizar estos experimentos en animales mayores es imposible por los costos y tiempos que insumirían dados los largos intervalos generacionales. Además, para tener una buena evaluación de las respuestas a la selección y sus consecuencias se necesita realizar experimentos a muy largo plazo. Palabras clave: selección fenotípica, variabilidad genética, ratones.

# CRISPR Y LA GENERACIÓN DE MODELOS ANIMALES GENÉTICAMENTE MODIFICADOS

CRISPR FOR THE GENERATION OF GENETICALLY MODIFIED ANIMAL MODELS

Crispo, M.; Schlapp, G.; Meikle, M.N.; Mulet, A.P.

Unidad de Animales Transgénicos y de Experimentación, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay. crispo@pasteur.edu.uy

El uso de la tecnología CRISPR para la obtención de animales genéticamente modificados (GM) ha permitido acelerar la obtención de modelos GM así como aumentar la complejidad de los mismos. En la Unidad de Animales Transgénicos y Experimentación del Institut Pasteur de Montevideo la incorporación de esta herramienta se realizó en el año 2014, complementando así tecnologías como la microinyección pronuclear, recombinación homóloga en célula madre embrionarias, lentivirus y transposones. En nuestro laboratorio el uso de CRISPR permitió reducir los tiempos de obtención de modelos y el número de animales utilizados, reduciendo también los costos para la unidad y los investigadores. Desde entonces hemos producido modelos con aplicaciones en biomedicina y agropecuaria. Generamos modelos *knock-out* y *knock-in* en murinos y ovinos, así como *knock-out* condicionales en murinos. Las aplicaciones más frecuentes de los modelos murinos han sido en el campo del cáncer, inmunología, enfermedades neurodegenerativas y metabólicas. En animales productivos, los modelos que hemos generado están vinculados a mejoras en la producción animal y modelos de enfermedades humanas. Nuestra unidad investiga activamente para mantenerse a la vanguardia en cuanto a la generación de animales GM, posicionándonos como una plataforma tecnológica de referencia en América del Sur.

Palabras clave: CRISPR, biomedicina, modelos animales.

### SIMPOSIO:

# MODELOS ANIMALES EN LA INVESTIGACIÓN ONCOLÓGICA ANIMALES MODELS FOR ONCOLOGIC RESEARCH

Coordinador: Menacho Márquez, M.

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER, CONICET-UNR). Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB). Facultad de Ciencias Médicas. Rosario. Argentina.

mmenachomarquez@gmail.com

En las dos últimas décadas, se ha conseguido un progreso significativo en el diagnóstico y tratamiento del cáncer, el cual se refleja en la disminución continua de los índices de mortalidad por cáncer y por los números crecientes de supervivientes. Este progreso es posible solo por nuestros esfuerzos en entender los mecanismos biológicos en los que se basa el cáncer. Una parte importante de los avances que se han producido en los últimos 20 años en el tratamiento del cáncer se han basado en la colaboración entre la investigación básica y la clínica. Existen numerosos ejemplos en los que descubrimientos obtenidos en los laboratorios de investigación utilizando modelos preclínicos celulares o animales han permitido sentar las bases del desarrollo de nuevos métodos diagnósticos y/o de nuevas terapias que han permitido que algunos tipos de tumores como por ejemplo determinados subtipos de cáncer de mama, de cáncer de pulmón o de leucemias hayan pasado de ser prácticamente incurables a transformarse en enfermedades crónicas o en ocasiones a curarse completamente. Se trata, por tanto, de un camino que ya ha reportado éxitos notables y que hay que seguir recorriendo de manera decidida. En este simposio intentaremos acompañar el camino recorrido por investigadores en el área oncología en modelos de investigación preclínicos y conoceremos cómo estos avances pueden impactar en pacientes oncológicos.

# MODELOS PRE-CLÍNICOS DERIVADOS DE PACIENTES CON RETINOBLASTOMA Y SU USO EN LA INNOVACIÓN DEL TRATAMIENTO

# PRE-CLINICAL MODELS DERIVED FROM RETINOBLASTOMA PATIENTS AND THEIR USE IN TREATMENT INNOVATION

### Schaiguevich, P.

Investigadora Principal CONICET y Jefe de Clínica Hospital de Pediatría JP Garrahan, Buenos Aires. Argentina.

paula.schaiquevich@gmail.com

El retinoblastoma es el tumor intraocular más frecuente en la infancia presentándose siendo el Hospital de Pediatría JP Garrahan (HPG) el principal centro de tratamiento en nuestro país. La enfermedad puede afectar uno o ambos ojos, así como presentarse de forma intraocular o con diseminación local o a distancia en los casos mas avanzados principalmente por el diagnóstico tardío. A pesar de las innovaciones en las vías de administración local para el tratamiento del retinoblastoma intraocular, los casos con recaídas o refractarios a la enfermedad no cuentan con tratamientos de segunda línea. Por el contrario, la enfermedad con diseminación extraocular principalmente en médula ósea, huesos y sistema nervioso central presenta alternativas de tratamiento limitadas y de alta intensidad de quimioterapia. Los avances en la terapéutica de estos pacientes ha sido extremadamente limitada y el pronóstico en los casos de diseminación en SNC, es desalentador. Así, en ambos escenarios de la enfermedad, es necesario innovar en el tratamiento del retinoblastoma y por ello trabajamos bajo la modalidad de un grupo multidisciplinario en el HPG para el desarrollo de tratamientos innovadores que puedan ser trasladables a nuestra población. Para ello, hemos desarrollado diversos modelos preclínicos derivados de tumores de nuestros pacientes (sitios primarios y metastáticos) para comprender la biología del tumor y como herramientas de evaluación farmacológica. Estos estudios nos permiten evaluar fármacos alternativos a los utilizados actualmente en la clínica, sean fármacos novedosos o de reposicionamiento. La presentación disertará acerca de los avances realizados por el grupo de investigación, desarrollando y utilizando modelos preclínicos novedosos para la innovación en el tratamiento de éste tumor pediátrico.

Palabras clave: retinoblastoma, modelos pre-clínicos, terapia.

# QUIMIOTERAPIA METRONÓMICA Y REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER. UTILIDAD DE LOS MODELOS ANIMALES METRONOMIC CHEMOTHERAPY AND DRUG REPOSITIONING IN CANCER TREATMENT. USEFULNESS OF ANIMAL MODELS

# Scharovsky, O.G.

Instituto de Genética Experimental, Facultad de Ciencias Médicas, U.N.R., CONICET, CIC-UNR, Rosario. Argentina.

graciela.scharovsky@gmail.com

A principios del siglo 21 surgieron dos interesantes propuestas terapéuticas que presentaban diferentes enfoques para el tratamiento de los tumores malignos. La primera de ellas fue la Quimioterapia Metronómica que consiste en la administración crónica, a intervalos regulares, de dosis bajas de agentes quimioterapéuticos, sin periodos extendidos de descanso. Posteriormente, ganó fuerza la idea del Reposicionamiento de Fármacos en Oncología, es decir el uso de drogas bien conocidas y caracterizadas que fueron creadas para otros usos terapéuticos, para ser utilizadas en oncología. Poco tiempo después, las dos estrategias se combinaron en una denominada Metronomics. Ambos planteos comparten una serie de características que convierten a Metronomics en un enfoque atractivo para su uso en la terapia del cáncer: uso de fármacos conocidos y aprobados, lo que disminuye el tiempo necesario para entrar en la clínica; eficacia terapéutica; baja toxicidad; administración oral; mejor calidad de vida para el paciente; bajos costos, debido al uso, generalmente, de medicamentos fuera de patente, y posibilidad de su utilización, aún en países con muy bajos recursos económicos. En la Sección de Oncología Experimental del Instituto de Genética Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR venimos trabajando, desde hace más de 20 años, con esta nueva filosofía terapéutica. Los modelos animales utilizados para realizar nuestros estudios fueron diversos, abarcando dos especies murinas, animales inmunocompetentes e inmunodeficientes y diferentes modelos tumorales murinos. Dichos modelos nos permitieron arribar a una serie muy interesante de resultados que fueron difundidos a nivel internacional y que nos facultaron, en algunos casos, a realizar su traslación a la clínica, un paso fundamental en la investigación biomédica en general, y de terapéutica oncológica en particular.

Palabras clave: quimioterapia metronómica, reposicionamiento de fármacos, modelos animales.

# ETAPAS EN LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y TRASLACIONAL: DEL LABORATORIO A LA CLÍNICA

# STAGES IN CLINICAL AND TRANSLATIONAL RESEARCH: FROM THE LABORATORY TO THE CLINIC

### Alasino, C.

Instituto de Oncología de Rosario. Instituto Universitario Italiano. Rosario. Argentina. cmalasino@gmail.com

El ejercicio de la medicina viene realizándose desde hace años fundamentalmente basado en el conocimiento científico. "From the bench to the bed" son los términos que en la lengua inglesa han definido el traslado del conocimiento generado en el laboratorio de investigación básica a la clínica, en español es lo que conocemos como medicina traslacional, término que surge de la necesidad de un acercamiento entre el trabajo de mesada de laboratorio y la práctica médica cotidiana. Conceptualmente la medicina tralacional es un regreso a los orígenes de la medicina antigua, donde el médico estudiaba al paciente, a su enfermedad, diseñaba experimentos y tratamientos adecuados para dicho paciente. En los últimos años, especialmente con el desarrollo de la biología molecular, se han identificado innumerables blancos moleculares que han permitido el diseño de múltiples nuevas terapias, muchas de las cuales se encuentran aprobadas y en la aplicación clínica. En este camino todo nuevo medicamento debe sortear las fases de la investigación clínica que permitan demostrar utilidad terapéutica en ausencia de efectos indeseables. Específicamente en oncología, existen múltiples ejemplos, como la utilización del rituximab en los linfomas, trastuzumab en cáncer de mama y reciente el advenimiento de la nueva inmunoterapia con la utilización de nivolumab, pembrolizumab para el tratamiento de distintos tipos de tumores. Podemos mencionar también, el estudio de las bases moleculares de la quimioterapia metronómica. Ilevado a cabo en el Instituto de Genetica Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.R. que permitió realizar un estudio clínico de Fase I/II, con resultados alentadores. Todo este proceso que involucra la investigación básica

y las distintas fases de la investigación clínica implica tiempo y dinero. Actualmente se percibe la necesidad de estrechar lazos, un trabajo conjunto e interdisciplinario que lleve a optimizar recursos y reducir tiempos que redunden en un beneficio para los pacientes y la sociedad.

Palabras clave: medicina traslacional, modelos preclínicos, terapia metronómica.

# **SIMPOSIO:**

# CALIDAD Y DIAGNÓSTICO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO QUALITY AND DIAGNOSIS OF LABORATORY ANIMALS

Coordinadora: Gamboa, G.

Instituto Nacional de enfermedades virales humanas. Pergamino. Argentina. graciela2113@yahoo.com.ar

En la práctica científica la experimentación con animales es una actividad básica y fundamental para generar nuevos avances. Trabajar con animales nos plantea un conflicto ético que se relaciona con los derechos de los animales. Pueden eliminarse por completo los animales de experimentación? Contribuyendo transcendentalmente al bienestar humano y animal, el uso de los animales de experimentación es uno de los pilares fundamentales en el desarrollo de ciencias de la salud. Este desarrollo ha permitido un avance cada vez más acelerado sobre los conocimientos de tipo biológico, bienestar del hombre y de los propios animales. Actualmente los organismos de salud enfocan sus esfuerzos a las zoonosis, principalmente las enfermedades infecciosas tanto bacterianas como virales por su capacidad de mutar, como la resistencia a los antibióticos, capacidad de mutar infectando huéspedes de diferente escala zoológica. Desde nuestros puestos de trabajo nosotros involucrados en la producción o en la experimentación animal debemos asegurar las barreras y luego confirmar que estas barreras han sido efectivas. Para ello distribuimos los temas de la siguiente manera: 1. Diseño e Implementación de barreras primarias y secundarias en bioterios de ratones SPF. Dra. Andrea Maiza. Instituto Maiztegui. Argentina. 2. Verificación de barreras primarias y secundarias en bioterios de ratones SPF. Dra. Ana Ambrosio. Especialista en bioseguridad y cultivos celulares. Argentina. 3. Programa de controle de qualidade para monitoramento de saúde em animais de laboratório. Dra. Marcia Soraya Carreteiro de Oliveira. ICBT-Fiocruz Institute. Río de Janeiro. Brazil. 4. Desarrollo de una plataforma local para el monitoreo micro biológico en ratones de laboratorio. Claves para el envío de muestras. Tech. Sergio Oms. Universidad Católica de Córdoba. Argentina.

Palabras clave: animales, barreras, controles.

# DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE BARRERAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS EN BIOTERIOS DE RATONES SPF

DESIGN AND IMPLEMENTATION OF PRIMARY AND SECONDARY BARRIERS IN BREEDING FACYLITIES OF SPF MICE

### Maiza, A.

Instituto Maiztegui. Pergamino. Argentina. andreas.maiza@gmail.com

El bioterio de cría de animales de laboratorio es un interesante y complejo escenario para el diseño de la bioseguridad. El diseño y la implementación de barreras primarias y secundarias en bioterios surgen de la integración de dos conceptos fundamentales: la estimación del riesgo biológico y el diseño de la biocontención. La estimación del riesgo biológico está asociada a las características del animal (ratón), al ámbito en que se desarrollan las actividades, además de la formación y experiencia del personal en las actividades y procedimientos requeridos. Por otro lado, el diseño de la biocontención tiene como objetivo el establecimiento de barreras primarias y secundarias. El objetivo de las barreras es impedir la diseminación de microorganismos u otros elementos que puedan perjudicar al operador, al animal o sus aplicaciones. La separación física del bioterio del resto de las instalaciones segregación de actividades, restricción de ingreso a las diferentes áreas, circulación unidireccional del personal, animales, insumos y desechos, y caracterización de los suministros (energía eléctrica, aire, agua, vapor, insumos destinados a los animales, residuos) serán discutidos en la presentación. Cuando se ha iniciado un núcleo de cría con animales originados por un proveedor reconocido, que certifique su condición SPF, se deberá verificar su estado sanitario al arribo de los animales a las nuevas instalaciones a través de un exhaustivo

control microbiológico. La totalidad de las actividades de este bioterio puede planificarse en un nivel de bioseguridad 2 donde el funcionamiento de las barreras primarias y secundarias deberá verificarse periódicamente. Las exigencias de estas barreras se incrementaran cuando se trate de un bioterio de experimentación. Todos los bioterios, tanto de cría como de experimentación, deben funcionar en una planta física bien planificada, diseñada y construida, con un programa de mantenimiento preventivo y correctivo, observando estrictas barreras sanitarias que aseguren la calidad de los animales, la seguridad de los operadores y del medio ambiente. Palabras clave: bioseguridad, estimación del riesgo, barreras primarias y secundarias.

# VERIFICACIÓN DE BARRERAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS EN BIOTERIOS DE RATONES SPF

# VERIFICATION OF PRIMARY AND SECONDARY BARRIERS IN BREEDING FACYLITIES OF SPF MICE

### Ambrosio, A.M.

Asesora Científica del Programa BIOSEGA, Fundación Bioquímica Argentina. anaambrosio@yahoo.com.ar

El buen manejo de un bioterio de ratones SPF involucra el diseño e implementación de un aislamiento ambiental que impida la circulación de microorganismos indeseables. Este objetivo se logra mediante la aplicación de barreras primarias y secundarias de bioseguridad de nivel 2. Para corroborar la eficacia de estas barreras se ejecuta un programa de verificaciones de resultados en diferentes etapas. En las barreras primarias las verificaciones deberán demostrar: 1) que el equipamiento de protección personal, es usado según lo establecido en los procedimientos correspondientes; esto incluye a los gabinetes de seguridad biológica, para los cuales se contara con un programa preventivo y correctivo; 2) que en la buena práctica de bioterios se verifique: a) el ingreso correcto del personal a áreas críticas, b) ingreso de todos los insumos en las condiciones especificadas, c) manejo de los animales siguiendo los correspondientes procedimientos operativos vigentes, d) la formación continua y actualizada de los operadores. En las barreras secundarias las verificaciones deberán incluir: a) los procedimientos de limpieza y desinfección (programa, productos y procesos), b) los procedimientos de esterilización (equipos, procesos), c) condiciones ambientales para los animales (filtración y recambios de aire, temperatura, humedad), d) la demostración de la condición SPF de los animales, mediante muestreos programados para la búsqueda de patógenos específicos. Siguiendo un programa "ad hoc", deberán utilizarse reactivos y métodos estandardizados y validados, poniéndose especial énfasis en la vinculación de este programa con el de control de plagas, atendiendo a los agentes zoonóticos endémicos en la región en que se localice el bioterio. Palabras clave: bioseguridad, bioterio, monitoreo sanitario.

# PROGRAMA DE CONTROLE DE QUALIDADE PARA MONITORAMENTO SANITÁRIO EM ANIMAIS DE LABORATÓRIO

**QUALITY CONTROL PROGRAM FOR HEALTH MONITORING IN LABORATORY ANIMALS** 

Oliveira, M.; Hooper, C.; Ramos, S.

ICTB, Fundação Oswaldo Cruz. Brasil. marcia.oliveira@fiocruz.br

A Ciência tem como base a confiabilidade e reprodutibilidade dos resultados nas pesquisa científicas, principalmente quando se trata de produção de fármacos, novos tratamentos e pesquisas pré-clinicas. A Fiocruz como uma Instituição estratégica para Ciência, tecnologia e inovação em saúde tem um importante papel na melhoria contínua da qualidade nas pesquisas, desta forma o controle da qualidade de biomodelos experimentais são de suma importância para obtenção de resultados fidedignos. Para manter os padrões sanitários definidos ao longo dos anos, é imprescindível que se estabeleça a implantação de um programa de monitoramento sanitário, genético e ambiental de forma constante e que faça parte integrante de um sistema de garantia de qualidade. O Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos (ICTB/Fiocruz), possui como ferramentas de coordenação em monitoramentos, uma central diagnóstica exclusiva para realização de ensaios em biomodelos animais. O Serviço de Controle da Qualidade Animal (SCQA), com o uso de tecnologias qualificadas e modernas, executam procedimentos analíticos constantes e sempre em consonância com as recomendações internacionais da

Federation for Laboratory Animal Science Associations (Felasa). Tais recomendações, descrevem aspectos essenciais do monitoramento sanitário, como a escolha de agentes de relevância diagnóstica por espécie, seleção de amostras, interpretação dos resultados, assim como uso de animais sentinelas, frequência e tamanho da amostragem na criação e manutenção de roedores e lagomorfos. Assim, propendemos a identificação de agentes patogênicos que impactem diretamente no bem-estar e na qualidade dos animais mantidos e criados no ICTB. Através de metodologias operacionais específicas e atualizadas, o SCQA possui setores técnicos que realizam exames bioquímicos, hematológicos, imunológicos, microbiológicos, parasitológicos, anatomopatológicos e biologia molecular, todos com qualificação específica para diversas espécies animais. O SCQA está incorporado no sistema de rede de plataformas tecnológicas da Fiocruz, oferecendo serviços que auxiliam grupos de estudos capazes de gerar fontes inovadoras além de proporcionar o desenvolvimento de serviços técnicos que complementam os ensaios biológicos de diversos grupos de pesquisa em todo território nacional e internacional. Palavras chave: animais de laboratório, monitoramento sanitário, controle de qualidade animal.

# DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA LOCAL PARA EL MONITOREO MICRO BIOLÓGICO EN ROEDORES DE LABORATORIO. CLAVES PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS

# Oms, S.

Universidad Católica de Córdoba. Argentina. soms@cidie.ucc.edu.ar

Conocer y controlar el estado sanitario de los animales de laboratorio es de vital importancia en la investigación biomédica, ya que la salud de los mismos influye en los resultados experimentales disminuyendo la precisión de nuestro reactivo biológico y aumentando las variables experimentales. Basic Test es un panel de determinaciones para la estandarización microbiológica de animales de laboratorio mediante el uso de técnicas de Biología Molecular. Este panel fue diseñado en el CIDIE - CONICET teniendo en cuenta los principales lineamientos de las 3 R y haciendo foco en el bienestar animal mediante el uso de métodos no invasivos para el diagnóstico de agentes parasitarios, virales y bacterianos. Este panel nos permite evaluar la calidad microbiológica de animales a partir de muestras de orina y/o materia fecal sin necesidad de que los animales sean trasladados y sacrificados para su diagnóstico. Además, esta metodología nos permite prescindir de centinelas para la valoración de cepas, reduciendo de este modo el uso de animales para el diagnóstico y el costo de estos controles. Basic Test nos ayuda a evaluar con periodicidad el estado microbiológico de los planteles de producción, el funcionamiento de barreras sanitarias y la implementación de terapias antibióticas frente a determinados agentes. Por otra parte, siguiendo recomendaciones internacionales, este tipo de diagnóstico nos permite conocer si un agente está o no presente ante una serología positiva, permitiéndonos reducir las cuarentenas de los animales y conocer el estado sanitario de las hembras donantes antes de ser derivadas por histerectomía y posterior control de las crías. Basic Test en una técnica eficiente a la que se le pueden sumar numerosos ensayos inmunológicos y microbiológicos, constituyendo una plataforma versátil para mantenimiento de la salud y bienestar animal y asegurar la calidad de los resultados obtenidos a partir de la utilización de los mismos.

Palabras clave: basic test, monitoreo microbiológico, roedores.

# **SIMPOSIO:**

# MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE ENFERMEDADES PARASITARIAS

### ANIMALS MODELS TO STUDY PARASITIC DISEASES

Coordinadora: Vasconi, M.D.

Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Instituto de Genética Experimental Facultad de Ciencias Médicas. UNR. Argentina.

mdvasconi@yahoo.com.ar

Un parásito es un ser que vive a expensas de otro del cual obtiene sus nutrientes y morada. En toda infección parasitaria se establece una interrelación hospedero-parásito que define en última instancia infección parasitaria o enfermedad. Ante la problemática de elegir modelos animales para el estudio de las enfermedades producidas por parásitos debe tenerse en cuenta la especificidad de muchos de ellos hacia su hospedero y la cronicidad de este tipo de infecciones. Un modelo animal permite investigar, comportamiento del parásito, respuesta del hospedero, hechos que son difíciles o imposibles de estudiar directamente en el ser humano, dando información de lo que ocurre en un organismo vivo completo. En este simposio se aportarán conocimientos para la elección de animales para el estudio de la trichinellosis y la enfermedad de Chagas. Trichinella spiralis es un parásito con poca especificidad de especie, pudiendo afectar a más de 100 mamíferos incluido el hombre. La infección de cinco líneas de ratones, seleccionados artificialmente por conformación corporal, con este nematode, permitió obtener un modelo experimental de líneas susceptibles y resistentes y estudiar en ellas las posibles razones que llevan a este comportamiento. Trypanosoma cruzi es otro parásito que puede afectar a distintos animales y al hombre. En la decisión del modelo a utilizar se debe tener en cuenta que no es posible reproducir en todas las especies experimentales los signos y síntomas clínicos de la enfermedad de Chagas humana, ya sea de la fase aguda o crónica, como tampoco las manifestaciones histopatológicas, serológicas y las relacionadas con la respuesta inmune. También se comentarán distintos proyectos de investigación preclínica en enfermedad de Chagas que contemplan la aplicación de las 3Rs (reemplazo, reducción y refinamiento) con el fin de mejorar los modelos de investigación preclínica en la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: modelos animales, Trichinella spiralis, Trypanosoma cruzi.

# MODELO EXPERIMENTAL EN TRICHINELLOSIS EXPERIMENTAL MODEL IN TRICHINELLOSIS

# Vasconi, M.D.

Área Parasitología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Instituto de Genética Experimental Facultad de Ciencias Médicas. UNR. Argentina.

mdvasconi@yahoo.com.ar

La trichinellosis es una zoonosis producida por el consumo de carne proveniente de animales domésticos o silvestres infectados por Trichinella spp., siendo Trichinella spiralis la especie de mayor prevalencia en nuestro país. Este parásito presenta amplia distribución geográfica, baja especificidad de hospedero y gran adaptabilidad a distintas condiciones ambientales. Esta infección no sólo representa un problema para la salud humana sino también para la salud animal ocasionando una merma económica en términos de productividad. La infección se inicia con una fase enteral y culmina con larvas del parásito enquistadas en el músculo. El genotipo del hospedero posee un papel importante en el control de estas infecciones y en las condiciones de resistencia o susceptibilidad para el establecimiento de la infección. El Instituto de Genética Experimental de la Facultad de Ciencias Médicas, UNR, cuenta con una colonia de ratones formada por cuatro líneas obtenidas por selección artificial divergente y una quinta línea que se mantiene como testigo de selección. Después de más de 145 generaciones de cría selectiva cada línea constituye un genotipo particular. Se infectaron estas líneas con dosis crecientes de T. spiralis y se observó que no todas respondieron de la misma manera, se encontró una línea muy resistente, una muy susceptible y tres de susceptibilidad intermedia. La interacción genotipo x dosis fue muy significativa. Este modelo experimental de trichinellosis permitió el estudio de variables relacionadas a resistencia /susceptibilidad en las etapas aguda y crónica de la enfermedad y medición de citoquinas relacionadas a una respuesta Th1/Th2. Se estudió el comportamiento del hospedero en respuesta a la infección y reinfección, ya que esta última ocupa un lugar importante en la naturaleza, siendo responsable de la endenmicidad de esta parasitosis. Se estudiaron también en este modelo, los híbridos recíprocos F1 y la respuesta al tratamiento con nuevas formulaciones del albendazol.

Palabras clave: Trichinella spiralis, infección, resistencia/susceptibilidad.

# MODELOS ANIMALES EN ENFERMEDAD DE CHAGAS ANIMAL MODELS IN CHAGAS DISEASE

### Pérez, A.R.

Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER CONICET-UNR). Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB), Facultad de Ciencias Médicas, UNR. Argentina.

perez@idicer-conicet.gob.ar; aperez.cipreb@gmail.com

La investigación de distintos aspectos de la Enfermedad de Chagas se ha basado mayoritariamente en el uso de animales de experimentación, entre ellas distintas especies de hospederos como ratones, ratas, cobayos, hámsteres, conejos y en menor medida cerdos, perros y primates no-humanos. La decisión del modelo adecuado a utilizar en una determinada investigación debe ser tomada con cuidado, ya que no es posible reproducir en todas las especies experimentales los signos y síntomas clínicos de la enfermedad de Chagas humana, ya sea de la fase aguda o crónica, como tampoco las manifestaciones histopatológicas, serológicas e incluso aquellas relacionadas con la respuesta inmune. Asimismo, deben tenerse en cuenta diversos factores que condicionan la variabilidad de los resultados *in vivo*, tales como la susceptibilidad/resistencia del modelo animal, la cepa utilizada del parásito (o DTU), la forma (tripomastigote metacíclico o sanguíneo), las condiciones en la que se mantiene la cepa (*in vitro, in vivo*), la vía de administración, el inóculo, metodología del seguimiento de la infección y los criterios de cura en el caso de administración de drogas, en otros. Asimismo, entre las ventajas y desventajas de los distintos modelos animales deben tenerse en cuenta cuestiones tales como practicidad, el costo, la disponibilidad y asimismo la ética de uso. A algo más de 100 años de experimentación animal en relación con la Enfermedad de Chagas aún existen diversas interrogantes que deben resolverse para avanzar en cuestiones tales como el uso de drogas antiparasiticidas, la administración de vacunas profilácticas y terapéuticas y los criterios de cura.

Palabras clave: Trypanosoma cruzi, reproducibilidad, estandarización.

# INVESTIGACIÓN PRECLÍNICA EN ENFERMEDAD DE CHAGAS BAJO UN ENFOQUE 3RS PRECLINICAL RESEARCH IN CHAGAS DISEASE: A 3RS APPROACH

### Gulin, E.

Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), Universidad de Buenos Aires (UBA) Facultad de Medicina – CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Biotecnología en Reproducción Animal (INITRA-UBA). Buenos Aires, Argentina. jgulin@fvet.uba.ar

Los modelos animales juegan un rol clave en la investigación biomédica. La investigación preclínica y traslacional en enfermedad de Chagas ha contribuido a entender los procesos fisiopatológicos de la enfermedad y al desarrollo de nuevas opciones diagnósticas y terapéuticas mediante el uso de distintas especies animales. Sin embargo, el empleo de animales para investigación conlleva responsabilidades legales y éticas para preservar el bienestar animal durante los ensayos. Los principios de las 3Rs definidos por Russell y Burch en 1959 continúan guiando la investigación ética y responsable con animales y contribuyen a mejorar los modelos preclínicos y su potencial transferencia a estudios clínicos. En esta conferencia se comentarán distintos proyectos de investigación preclínica en enfermedad de Chagas que contemplan la aplicación de las 3Rs: el desarrollo de un sistema *in vitro* de cribaje de alto rendimiento para la identificación de compuestos candidatos con actividad anti-*Trypanosoma cruzi* y el desarrollo de una plataforma biotecnológica *in vitro* para evaluar la citotoxicidad reproductiva de benznidazol y nifurtimox (reemplazo), la realización de revisiones sistemáticas y meta-análisis para determinar la calidad del reporte en publicaciones y la eficacia de compuestos reposicionados (reducción) y la validación de un método de administración oral no invasivo en un modelo murino de infección aguda (refinamiento). Se espera que

este enfoque contribuya a mejorar los modelos de investigación preclínica en enfermedad de Chagas y a su vez, incremente el potencial de traslación a la investigación clínica.

Palabras clave: enfermedad de Chagas, investigación traslacional, principio de las 3Rs.

### **SIMPOSIO:**

# PEZ CEBRA: UN ORGANISMO MODELO PARA ESTUDIAR DESARROLLO Y ENFERMEDAD

# ZEBRAFISH: A MODEL ORGANISM TO STUDY DEVELOPMENT AND DISEASE

Coordinadora: Sigot, V.

Instituto de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería y Bioinformática (IBB-CONICET-UNER) Oro Verde, Argentina.

vsigot@ingenieria.uner.edu.ar

En este simposio las/os disertantes profundizarán sobre la relevancia del pez cebra (Danio rerio) como modelo para estudiar tanto el desarrollo embrionario normal como así también patologías humanas. Las tres primeras charlas pondrán en evidencia los aportes realizados en el modelo de pez cebra sobre i) migración celular colectiva en la morfogénesis de la línea lateral posterior; ii) la patogénesis molecular del desarrollo de las malformaciones craneofaciales que caracterizan al Síndrome de Treacher Collins y iii) la morfogénesis cardíaca en pez cebra. El simposio concluirá remarcando la importancia de contar con un programa de control sanitario de las líneas de pez cebra utilizadas en investigación. En la primera charla la Dra. Sigot se enfocará en la morfogénesis de la línea lateral posterior y en cómo caracterizar este proceso de migración celular colectiva mediante la implementación de una técnica de microfluídica. Luego, la Dra. Coux hablará sobre la generación de un novedoso modelo en pez cebra que recapitula el Síndrome de Treacher Collins en humanos y el rol de la proteína Tcof1en la formación de estructuras craneofaciales, lo que permitirá profundizar en la fisiopatología molecular de esta condición y ensayar estrategias terapéuticas. En la tercera charla la Dra. Lombardo contará cómo la identificación de transformaciones distintivas a escala celular y tisular revelan la morfogénesis del plegamiento del tubo cardíaco y cómo la inhibición de la vía de señalización de Bmp (Bone morphogenetic protein) induce anormalidades en dicho proceso que permitirán entender enfermedades cardíacas congénitas en humanos. El simposio concluirá con una charla del Dr. Laborde, en la que describirá las técnicas de diagnóstico y examinación directa que permitirán monitorear la sanidad de líneas de pez cebra con el fin de maximizar la reproducibilidad de los ensayos y minimizar el número de animales utilizados.

# EL PEZ CEBRA, UN MODELO PARA ESTUDIAR MIGRACIÓN CELULAR COLECTIVA ZEBRAFISH, A MODEL TO STUDY COLLECTIVE CELL MIGRATION

### Sigot, V.

Instituto de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería y Bioinformática (IBB-CONICET-UNER) Oro Verde, Argentina

vsigot@ingenieria.uner.edu.ar

Collective cell migration is a key developmental process underlying tissue-scale remodelling in epithelial morphogenesis but also a distinctive feature of certain tumour invasions. We employed the posterior lateral line primordium (pLLP) in zebrafish as a model system to study the dynamics cell-cell contacts remodelling and its impact in collective cell migration. Despite the morphogenesis of the lateral line primordium is a well-studied model its dynamics has been quantitated mostly by cell-tracking methods. Here, we showed that pLLP migration is analysable in terms of local velocity fields by Particle Image Velocimetry (PIV). By combining *in vivo* fluorescence microscopy and PIV analysis in zebrafish embryos expressing epithelial cadherin (E-cadh)-GFP in the pLLP it was possible to extract distinctive velocity profiles along the pLLP. PIV proved sensitive to estimate pLLP migration speed and directionality, as well as to predict polarized epithelialization and protoneuromast deposition. In this talk I will tell how this technique, routinely used in fluid dynamics may prove promising as a tool to characterize the dynamics of collective cell movements in development and disease.

Keywords: collective cell migration, epithelial cadherin, Particle Image Velocimetry.

# MODELANDO ANOMALIAS CRANEOFACIALES EN PEZ CEBRA MODELING CRANIOFACIAL DISORDERS IN ZEBRAFISH

### Coux, G.

Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular del Desarrollo del Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET/UNR). Área Biofísica. Fac. Cs. Bioq. y Farmacéuticas-UNR-Rosario, Argentina. coux@ibr-conicet.gov.ar

Treacher Collins Syndrome (TCS) is a rare congenital disease (1:50 000 live births) characterized by craniofacial defects, including hypoplasia of facial bones, cleft palate and palpebral fissures. Over 80% of the cases are due to mutations in the *TCOF1* gene. We developed a novel TCS-like zebrafish model displaying features that fully recapitulate the spectrum of craniofacial abnormalities observed in patients. As it was reported for a *Tcof1*\* mouse model, TCS-like zebrafish displayed reduced rRNA transcription, stabilization of Tp53 and increased cell death in the cephalic region. Also, an increase of ROS along with the overexpression of redox-responsive genes was detected. Modeling TCS in zebrafish allowed us to further deepen the molecular pathophysiology of the condition and to test possible therapeutics to ameliorate cranial skeleton malformations. Our work is an example of how zebrafish is a convenient animal model with an impressive toolbox to study craniofacial disease. Keywords: Treacher Collins Syndrome, neurocristopathy, proteasome inhibitors.

# PEZ CEBRA COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DEL DESARROLLO DEL CORAZÓN ZEBRAFISH AS A MODEL FOR CARDIAC DEVELOPMENT

# Lombardo, V.

Laboratorio de Biología Estructural-Celular del Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET-UNR). Centro de Estudios Interdisciplinarios (CEI-UNR), Rosario, Argentina. lombardo@ibr-conicet.gov.ar

Cardiac looping is a morphogenetic process during vertebrate heart development which brings the developing heart chambers into an approximation of their definitive topographical relationships. Abnormalities in this process result in human congenital heart defects. We analyze cardiac looping morphogenesis in the zebrafish embryo and identify three distinct cell- and tissue-scale transformations: i) myocardial cells shape change from cuboidal to conical at the superior atrioventricular region contributes to S-shaped bending; ii) torsional deformation close to the outflow tract brings to a torque-like winding of the entire heart tube between its two poles; iii) anisotropic growth of cardiomyocytes causes ballooning of the ventricle and atrium along their outer curvatures which reinforces S-shaping of the heart. During cardiac looping, Bone morphogenetic protein (Bmp) pathway signaling has a regional patterning which correlates with bending of the nascent heart tube. Upon its pharmacological or genetic inhibition, myocardial cells maintain cuboidal cell shapes and S-shaped bending is impaired. These results provide novel insights into the molecular control of cardiac looping morphogenesis in the zebrafish with relevance for a more comprehensive understanding of human congenital heart defects.

Keywords: heart morphogenesis, Bmp signalling pathway, congenital heart defects.

# CONTROL DE SALUD EN EL PEZ CEBRA (Danio rerio) UTILIZADO EN INVESTIGACIÓN HEALTH CONTROL IN ZEBRAFISH (Danio rerio) USED IN RESEARCH

### Laborde, J.M.

Laboratorio de Animales de Experimentación. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

juanmartinlaborde@gmail.com

The knowledge of common diseases zebrafish (Danio rerio) and their impact on research results has increased substantially and it is recommended that fish colonies have a routinary health monitoring program for the colony. This program should minimize or eliminate the impact of infectious diseases on animals and research results, as well as protect human health. Despite the existence of standardized health control programs in other countries, in Argentina they have recently been implemented but there is still no information on the sanitary status of Zebrafish

# **Simposios**

from many colonies. It has been shown that several agents infect the zebrafish and could alter the physiology, immunity, genetics, behavior and test results. These agents can be primary and / or opportunistic pathogens that due to stress; poor management techniques and / or poor water quality can cause disease. Subclinical infections in zebrafish can give confusing experimental results, poor reproducibility and unnecessary use of more animals to demonstrate statistical significance. Therefore, it is necessary to apply measures to mitigate this risk and ensure that the results of the research carried out are free of uncontrolled variables. The samples to be used may be animals and environmental samples. Direct tests in colony animals will identify pathogens with a high prevalence, but they may overlook unusual pathogens when the sample size is not adequate. The diagnostic techniques available to implement can be polymerase chain reaction (PCR), bacteriological cultures and direct examinations. A combination of PCR, microbiological techniques, histopathology and a general examination of the animals contribute to a complete health profile of the colony.

Keywords: health control, zebrafish, disease.

# **Premiaciones y Menciones**

La Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología en Animales de Laboratorio AACyTAL se complace en anunciar los siguientes trabajos premiados y distinguidos:

# PRIMER PREMIO FEDERICO GULLACE:

### **MOE-27**

COMBINED THERAPY WITH CHLOROQUINE AND PROPRANOLOL FOR COLORECTAL AND TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCERS TREATMENT

Anselmino, L.; Baglioni, M.V.; Reynoso, G.; Scharovsky, G.O.; Rozados, V.R.; Rico, M.J.; Menacho Márquez, M.

### **SEGUNDO PREMIO FEDERICO GULLACE:**

### **MOE-21**

ANTITUMORAL EFFICACY AND BIOSAFETY EVALUATION OF METALLATED PORPHYRIN-DOPED CONJUGATED POLYMER NANOPARTICLES FOR APPLICATION IN PHOTODYNAMIC THERAPY AGAINST GLIOBLASTOMA

Caverzán, M.D.; Palacios, R.E.; Chesta, C.A.; Ibarra, L.E.

### **MENCIÓN FEDERICO GULLACE:**

### **MOE-29**

MONITOREO GENÉTICO DE CEPAS CONSANGUÍNEAS DE RATAS: ADAPTACIÓN DE LA TÉCNICA SSLP CON REACTIVOS LOCALES

Torales, F.; Tau, R.; Ferreccio, C.; Bachir, N.; Romera, S.; Maidana, S.

La Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio AACyTAL seleccionó los siguientes ocho trabajos que fueron presentandos en modalidad de **COMUNICACIÓN ORAL** durante el congreso:

### **BPL-03**

CRITERIOS DE MANEJO DEL PEZ CEBRA BASADOS EN CARACTERÍSTICAS DE LOS ECOSISTEMAS DE ORIGEN: SU APLICACIÓN EN ACUARIOS DE INVESTIGACIÓN

Graziati, S; Coux, G.

# **Premiaciones y Menciones**

### **MOE-10**

SESGO DE SEXO EN ESTUDIOS PRECLÍNICOS: EL CASO DEL EFECTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Vinardell, M.P.; Mitjans, M.

### **MOE-19**

LA RESPUESTA DEL HOSPEDERO EN LA FASE AGUDA DE LA INFECCIÓN CON Trichinella spiralis (Ts) CONDICIONA PARCIALMENTE LA RESISTENCIA AL PARÁSITO

Indelman, P.; Codina, A.V.; Litta, A.; Marizza, V.; Vasconi, M.D.; Hinrichsen, L.I.

### **MOE-24**

**EXPERIMENTAL MODELS OF WOUND HEALING: SURGICAL APPROACHES**Berengeno, A.; Salinas, F.; Díaz, P.; Rebelindo, E.; García Lázaro, R.; Alonso, D.; Salvetti, N.; Farina, H.; Ortega, H.

### **MOE-27**

# COMBINED THERAPY WITH CHLOROQUINE AND PROPRANOLOL FOR COLORECTAL AND TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCERS TREATMENT

Anselmino, L.; Baglioni, M.V.; Reynoso, G.; Scharovsky, G.O.; Rozados, V.R.; Rico, M.J.; Menacho Márquez, M.

### **MOE-32**

# MODELOS MURINOS DE DESNUTRICIÓN Y OBESIDAD: COMPARACIÓN DE PARÁMETROS BIOMÉTRICOS

Corimayo, M.; Pereyra, R.; Mora, M.C.; Ramos, F.; Micheloud, J.F.; Burgos, V.; Davies, C.

### **MOE-35**

# EVALUACION DEL PAPEL DEL DIMORFISMO SEXUAL MURINO EN LA RESPUESTA A VACUNAS CONTRA T. CRUZI

Bulfoni Balbi, C.; Pacini, M.F.; Dinatale, B.; González, F.; Villar, S.; Prochetto, E.; Farré, C.; Chapo, G.; Marcipar, I.; Cabrera, G.; Pérez, A.R.

### **EBA-03**

# IMPACTO DE LA PIROTECNIA EN EL COMPORTAMIENTO DE GATOS DE COLONIA COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Coralli, F.; García Mitacek, M.C.; Nuñez Favre, R.; Stornelli, M.C.; Stornelli, M.A.

Área Diseño de Instalaciones, Equipamiento y Buenas Prácticas de Laboratorio | BPL

### BPL-01

# ESTUDIO DIAGNÓSTICO DEL CUMPLIMIENTO DE LA CLÁUSULA 7.5 DE LA NORMA ISO 9001: 2015 BIOTERIOS CONVENCIONALES EN VENEZUELA

# Moya Acosta, M<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Medicina Experimental "José Gregorio Hernández" Facultad de Medicina - UCV - Caracas - Venezuela. <sup>2</sup>Dirección General de Producción. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" Caracas. Venezuela.

mesumoya@yahoo.es

En los Bioterios es fundamental mantener la normalización o estandarización de los procesos de trabajos (producción de animales e investigación) como condición primaria e ineludible para asegurar la calidad del producto / servicio con el propósito de obtener eficacia, eficiencia y mejora continua en todas sus funciones y actividades para lo cual requiere el uso de documentos. La documentación de los procesos es la mejor prevención contra la improvisación y los experimentos en el día a día. La norma ISO 9001:2015 reúne los requisitos para la certificación de Sistemas de Gestión de Calidad de una organización, los cuales buscan la mejora de los procesos a fin de satisfacer las necesidades de sus usuarios. La presente investigación tuvo como objetivo realizar un diagnóstico del estado actual de la documentación en los Bioterios Nacionales en Venezuela en relación al desempeño de la cláusula 7.5 de la norma ISO 9001:2015 en los procesos de producción y experimentación de animales de laboratorio. Se realizó una investigación descriptiva y exploratoria. Se diseñó un instrumento (encuesta) donde se recabó información en relación a la presencia y uso de la documentación en los procesos productivos y experimentales de los Bioterios tomando en cuenta lo descrito en las normas ISO 9001:2015 con la finalidad de reunir información valiosa para entender la problemática. Se sometió a validación del instrumento por experto y se realizó prueba piloto en cinco instituciones similares. La actividad se llevó a cabo en 22 Bioterios (convencionales), registrados en la Asociación Venezolana para la Ciencia de Animales de Laboratorio (AVECAL), los cuales mantienen animales de laboratorio en el país. El instrumento se envió vía correo electrónico a los Jefes de los Bioterios. Se tabularon los datos obtenidos en la encuesta en función de las variables investigadas. En el diagnóstico realizado se evidenció que el 90% de los Bioterios nacionales, no cuentan con una estructura documental adecuada que permita realizar un control, seguimiento conveniente a sus procesos y evidenciar resultados. Hay un desconocimiento del marco jurídico nacional existente y su implementación, así como la Ley Orgánica del Sistema Venezolano para la Calidad, las Normas Generales de Control Interno de la Contraloría General de República y la Norma ISO 9001:2015. Es importante tener presente que en todos los procesos organizacionales, la documentación contribuye a lograr la conformidad de los requisitos del cliente y la mejora de calidad porque provee de información apropiada para cada etapa de la implementación de un sistema de gestión, desde su planificación hasta su evaluación. Se recomienda el diseño de una guía metodológica, para que los Bioterios nacionales comiencen a elaborar su documento siguiendo la cláusula 7.5 de la norma ISO 9001:2015 a fin de mejorar la eficiencia de los procesos en los Bioterios convencionales en el país.

### Palabras clave: gestión de documentos, bioterio, normas ISO.

# **BPL-02**

# INFLUENCIA DE LA INTENSIDAD DE LA ILUMINACIÓN EN CARACTERES REPRODUCTIVOS EN RATONES SELECCIONADOS POR PESO

Martínez, L<sup>1</sup>.; Orozco, N<sup>2</sup>.; Oyarzabal, MI<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Becaria Programa de Promoción de Actividades Científico Tecnológicas, Facultad de Cs. Veterinarias - UNR. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones con Animales de Laboratorio, Facultad de Cs. Veterinarias - UNR. Argentina.

luisina.martinez7@gmail.com

La iluminación puede afectar la reproducción y la fisiología de los animales. Hay tres aspectos a tener en cuenta: a) intensidad de la iluminación (IL): adecuada a la especie y distribuida uniformemente en los distintos puntos de las salas; b) espectro: semejante a la luz solar; c) fotoperíodo: constante. La ANMAT recomendó luz artificial, tipo luz de día, intensidad aproximada de 300 lux a un metro de altura del piso, ciclo de luz-oscuridad

# Área Diseño de Instalaciones, Equipamiento y Buenas Prácticas de Laboratorio | BPL

de 12hs/12hs. Sin embargo, en otros estudios se sugiere una intensidad tan baja como 40 lux. En una de las salas del Centro de Investigaciones con Animales de Laboratorio (CIAL) de la Fac. de Cs. Veterinarias - UNR, donde se crían 5 líneas de ratones albinos (*Mus musculus*) derivadas de la cepa CF1: una población testigo (t) y 2 pares de líneas de selección divergente para peso corporal (s, s', h y h'), se mantiene un ciclo de 12hs luz/12hs oscuridad y se ilumina con 3 tubos fluorescentes luz-día de 36W. Las parejas de reproductores se alojan en cajas ubicadas en 5 estantes paralelos a diferentes alturas del piso, 10 cajas por estante. Para probar si la distribución de la luz es uniforme y si afecta a la reproducción de los ratones, se realizaron 12 mediciones semanales de la IL en 2 puntos por caja, adelante y atrás (mayor y menor luminosidad, respectivamente) (CICUAL FCV - UNR Expte. 9784). Al inicio del servicio, las parejas de las 5 líneas se asignaron al azar en los estantes. Se incluyeron en el estudio: 20 parejas t, 6 s', 8 h y 6 h'. Se registró: días transcurridos entre el ingreso a servicio y el primer parto (DSP), tamaño de camada al nacimiento (TCN1) y al destete (TCD1), intervalo en días entre el primero y segundo parto (IPP), tamaño de camada al segundo parto (TCN2) y al destete (TCD2). Se estimaron los promedios de la IL en lux por estante y ubicación de la lectura (Tabla I) y se encontraron diferencias significativas entre estantes y ubicación (ANOVA; p<0,05). Las pendientes de las variables reproductivas: DSP, TCN1, TCD1, IPP, TCN2 y TCD2 en la IL fueron todas no significativas (p<0,05).

Tabla I. Promedios y errores estándar de la intensidad de la luz

Ubicación	Estantes (1: más alto; 5: más bajo)				
	1	2	3	4	5
Atrás	166,9±1,2	38,2±1,2	14,5±1,2	10,6±1,2	7,9±1,2
Adelante	184,9±1,2	128,1±1,2	101,0±1,2	88,2±1,2	78,8±1,2

Si bien los valores medios de la IL en el sector trasero de las cajas son menores que los encontrados en la bibliografía, los animales tienen la posibilidad de elegir sectores más luminosos dentro de su caja. Los resultados obtenidos demuestran que la IL en la sala no es uniforme y, que en estas condiciones, no incide sobre los caracteres reproductivos.

Palabras clave: iluminancia, reproducción, ratones

Trabajo presentado en: XX Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2019. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

### **BPL-03**

# CRITERIOS DE MANEJO DEL PEZ CEBRA BASADOS EN CARACTERÍSTICAS DE LOS ECOSISTEMAS DE ORIGEN: SU APLICACIÓN EN ACUARIOS DE INVESTIGACIÓN

Graziati, S1.; Coux, G1.

<sup>1</sup>Instituto de Biología Celular y Molecular de Rosario (IBR-CONICET). Argentina. graziati@ibr-conicet.gov.ar

El pez cebra o zebrafish (Danio rerio) es el organismo acuático más utilizado como animal modelo en laboratorios en investigación. Esto se debe, más allá de la disponibilidad de herramientas genéticas y su homología génica con el Homo sapiens, a su fácil mantenimiento, gran abundancia y frecuencia de desoves, rapidez de crecimiento (desde larva a adulto maduro sexualmente) y la posibilidad de completar ciclos de producción sin tener la necesidad condicionante de adquirir nuevos individuos o planteles. A fin de lograr que un acuario de pez cebra funcione con estas características, es necesario adueñarse de un conjunto de conocimientos técnicos que escapan a la bibliografía tradicional que abunda en torno al pez cebra. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es presentar a la comunidad la puesta a punto, resolución de inconvenientes y mantenimiento de un acuario de pez cebra de calidad para el desarrollo de experimentos biomédicos. Se describen estrategias para la resolución de problemas que se repiten en diferentes centros de investigación que deciden utilizar el pez cebra como modelo: de calidad de agua, inhibición de la reproducción, mala calidad de embriones, aparición de enfermedades, etc. Para poder resolver este tipo de escenarios, fue necesario profundizar en los diferentes ecosistemas naturales donde habita originariamente el pez cebra, principalmente en la región de la India y Birmania (Myanmar). El estudio de las características propias de los hábitats donde cumple su ciclo de vida el pez cebra permitieron ajustar principalmente: los parámetros de calidad de agua (temperatura, pH, oxígeno disuelto, etc.), el comportamiento de la especie y las fuentes de alimento. Como, por ejemplo, manteniendo cardúmenes de 21 peces reproductores (12 hembras y 9 machos) a una temperatura de

# Área Diseño de Instalaciones, Equipamiento y Buenas Prácticas de Laboratorio | BPL

26 °C, un pH de 8, y una buena alimentación, logramos inducir la reproducción en el momento elegido, y evitar así, la reproducción en los acuarios de mantenimiento. De este modo, con regularidad y acostumbramiento, se pueden planificar los desoves de manera metódica y programada. Como conclusión, podemos informar una mejora significativa en el manejo general de pez cebra, intentando por sobre todas las cosas, mimetizar las condiciones naturales y la dinámica de las poblaciones de pez cebra en la naturaleza. Esto a su vez, redunda en una mayor eficacia de la reproducción controlada, una mayor producción de embriones, una reducción en el uso de animales, con la ventaja de ser fácilmente replicable. Además, todas estas mejoras se lograron a bajo costo e independientemente de la adquisición de sistemas comerciales de acuarios. La manipulación de peces y sus embriones se llevó a cabo en estricta concordancia con las principales pautas nacionales e internacionales de cuidado animal. Los protocolos fueron aprobados por la Comisión de Bioética para el Manejo y Uso de Animales de Laboratorio de la Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas de la UNR, (Res. C.D. Nº 283/16, 022/20).

Palabras clave: Danio rerio, ecosistemas naturales, comportamiento en acuario.

### **BPL-04**

# PROYECTO LANAIP: LABORATORIO DE IMÁGENES PET/SPECT/CT PARA SU USO EN PEQUEÑOS ANIMALES DE LABORATORIO

Pozzi, E.C.C<sup>1</sup>; Rogulich, L.<sup>1</sup>; Monti Hughes, A.<sup>1,2</sup>; Portu, A.M.<sup>1,2</sup>; Gómez, P.D<sup>1</sup>; Furnari JC<sup>1</sup>; Santa Cruz, G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

epozzi@cnea.gob.ar / eccpozzi@gmail.com

Actualmente, en Argentina no se cuenta con equipamiento de imagenología híbrida para la obtención de Tomografías por Emisión de positrones (PET), de fotones únicos (SPECT) y de transmisión de rayos X (CT) para modelos preclínicos en animales de laboratorio (pequeños roedores). En el marco de los objetivos planteados en el Plan Nacional de Medicina Nuclear (PNMN), y con el apoyo financiero de la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación<sup>1</sup>, la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA) adquirió un instrumento de imagenología trimodal PET/SPECT/CT. Con esta nueva herramienta disponible, se proyectó la creación del Laboratorio Nacional de Imagenología Preclínica (LANAIP), cuyo principal objetivo será la adquisición de imágenes estructurales y funcionales de muy alta resolución espacial y excelente sensibilidad, mediante las técnicas de microPET, microSPECT y microCT, en pequeños animales de laboratorio utilizados en protocolos de investigación científica en cáncer y enfermedades humanas en general, de acuerdo con las actividades de I&D para la salud que llevan adelante la CNEA y otras instituciones a nivel nacional. El LANAIP actualmente se encuentra en una primera etapa de diseño, adecuación de instalaciones y licenciamiento ante la Autoridad Regulatoria Nuclear (ARN). Se emplazará en el Centro Atómico Ezeiza (CAE), donde la CNEA cuenta con capacidades existentes de infraestructura y recursos humanos para la producción de radioisótopos (reactores nucleares RA3 y próximamente RA10, ciclotrón y plantas de producción), laboratorios de investigación y desarrollo de radiofármacos, y producción y mantenimiento de animales de laboratorio (bioterio central). Contará con una sala de adquisición de imágenes, un laboratorio de radiofarmacia y una sala para el mantenimiento transitorio de animales durante la realización de los estudios. El objetivo de este trabajo es describir las capacidades del LANAIP y el flujo de trabajo proyectado, desde el punto de vista del cuidado y uso de animales de laboratorio. Mediante el uso de la tecnología con la que contará el LANAIP, se busca proveer información de forma no invasiva, lo que representará un refinamiento en los métodos de evaluación en modelos de investigación. A su vez, la posibilidad de realizar estudios estructurales y funcionales sin requerir la eutanasia, reducirá el número de animales en ensayos que requieran puntos de seguimiento intermedios. La puesta en marcha de este laboratorio, en sinergia con la infraestructura asociada existente en el Polo de Investigación Traslacional del CAE, posibilitará dar el primer paso en la cobertura regional y nacional en imagenología en su tipo, facilitando la realización de estudios traslacionales con radiofármacos como agentes diagnósticos y terapéuticos.

Palabras clave: imagenología trimodal, LANAIP, pequeños animales.

-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Proyecto de Modernización de Equipamiento (PME) 0199/2015: "Aplicaciones de la Tecnología Híbrida Micro-PET-SPECT/CT en Actividades de Investigación y Desarrollo en Pequeños Animales de Laboratorio"

Área Diseño de Instalaciones, Equipamiento y Buenas Prácticas de Laboratorio | BPL

### **BPL-05**

# ESTUDIO RETROSPECTIVO DE PATOLOGÍAS ESPONTÁNEAS EN CONEJOS NEOZELANDESES

Notaro, US.<sup>1</sup>; Sacco, SC.<sup>1</sup>; Belotti, E.M.<sup>1</sup>; Arnodo, V.<sup>1</sup>; Hunziker, B.<sup>1</sup>; Bandeo, J.Y.<sup>1</sup>; Salvetti, N.R.<sup>1</sup>; Ortega, H.H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

ulisesnotaro@hotmail.com

El desarrollo de nuevos agentes terapéuticos incluye en muchos casos la evaluación de la actividad y seguridad de una droga en modelos experimentales con animales de laboratorio como ratas, ratones y conejos. Estos animales pueden presentar patologías espontáneas (PE) en el transcurso de su vida que representan cambios en la morfología tisular y fisiología de los órganos y que pueden afectar su utilidad en los ensayos biomédicos. Las lesiones por PE no deben ser confundidas durante la evaluación histopatológica con aquellas producidas por sustancias evaluadas en ensayos de toxicidad y preclínicos. El objetivo de este trabajo fue reportar la presentación de patologías espontáneas diagnosticadas entre los años 2017 y 2020 en conejos neozelandeses del Centro de Medicina Comparada (CMC). Se realizó un análisis retrospectivo a partir de los registros del área analítica de histopatología del CMC y se seleccionaron los casos con diagnóstico clínico, de necropsia y con histopatología compatibles con PE. Los animales provenían del área de producción del CMC, no fueron sometidos a ningún tratamiento y presentaron signos clínicos de enfermedad espontáneos. Se realizó la necropsia completa y el posterior análisis histopatológico de los órganos bajo Procedimientos Operativos Estandarizados aprobados y en conformidad con los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio. Se detectaron 29 casos de patologías espontáneas diagnosticadas entre 2017 y 2020, de los cuales 16 (55%) fueron en hembras y 13 (45%) en machos. Los animales afectados tenían una edad de entre 0 y 28 días en 5 casos (17%), 29 y 364 días en 19 casos (66%) y de 365 días a 4 años días en 5 casos (17%). Las enfermedades diagnosticadas afectaron los siguientes sistemas: respiratorio en 9 casos (31%) y fueron neumonías en 8 casos, y en 1 caso se diagnosticó hemorragia y edema pulmonar severo; sistema nervioso en 8 casos (28%) y se diagnosticaron como displasia cerebral en 3 casos, hidrocefalia en 1 caso y en 4 casos el diagnóstico fue presuntivo y no pudo confirmarse, todos los animales afectados fueron neonatos o jóvenes. En el aparato reproductor en 7 casos (24%), todas hembras con fallo reproductivo, y se diagnosticó hiperplasia endometrial quística en 2 casos, fibrosis endometrial y miometrial en 2 casos, pólipos uterinos en 1 caso y abortos no infecciosos de causa indeterminada en 2 casos. Los otros 5 casos (17%) fueron glaucoma congénito en 3 gazapos, pielonefritis y conjuntivitis supurativa en 1 caso y dermatitis y miositis supurativa en otro caso. A diferencia de las PE en ratas y ratones de laboratorio, las cuales se encuentran ampliamente documentadas y descriptas, existe menos información acerca de este tipo de procesos en conejos. Por lo tanto, resulta fundamental la identificación y descripción de PE en esta especie, a fin de evitar una mala interpretación o confusión con lesiones halladas particularmente en ensayos crónicos. Es esencial que cada centro de investigación tenga registro de las PE frecuentes en sus colonias de animales, con el fin de determinar la relevancia de las mismas, su impacto en la salud de la colonia y en estudios experimentales. Palabras clave: patologías espontáneas, conejo, laboratorio.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-01**

# ANÁLISIS ULTRASONOGRÁFICO DE IMPLANTACIÓN Y BIOCOMPATIBILIDAD DE BIOMATERIALES HETERÓLOGOS EN CONEJOS

Salinas, F.<sup>1</sup>; Notaro, U.<sup>1</sup>; Belotti, M.<sup>1</sup>; Unrein, F.<sup>1</sup>; Cabaña, E.<sup>1</sup>; Poque, M.<sup>1</sup>; Orlandini, A.<sup>1</sup>; Ortega, H.<sup>1</sup>; Salvetti, N.<sup>1</sup>; Matiller, V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Medicina Comparada. Instituto de Cs. Veterinarias del Litoral. Argentina. facundo2495@hotmail.com

La ultrasonografía es una herramienta complementaria de diagnóstico muy útil que no implica riesgos para el animal y brinda información detallada de tejidos blandos y duros. El objetivo de este trabajo es analizar la utilidad de este recurso en estudios preclínicos de seguridad de candidatos terapéuticos destinados a la regeneración ósea. En el Centro de Medicina Comparada (CMC) se realizó un ensayo de evaluación de la biocompatibilidad de biomateriales de origen bovino y porcino para la regeneración tisular destinados a diferentes aplicaciones médicas. Los mismos se implantaron quirúrgicamente en la tibia de conejos Neozelandeses y se tomaron los datos correspondientes de acuerdo a lo detallado en la norma ISO10993-6. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética y Seguridad de la FCV-UNL (N° 662/21). La intervención quirúrgica en cada animal se realizó en la diáfisis, medial a la cresta de las tibias derecha e izquierda. En esta última se implantaron los biomateriales a ser probados y la derecha se utilizó como control sin implantes. La cirugía fue realizada por los médicos veterinarios del CMC en condiciones de asepsia y de acuerdo con la buena práctica quirúrgica. Los animales fueron anestesiados y se procedió a la realización de una incisión en piel y tejido subcutáneo en la región cráneo-lateral de la tibia a la altura de su tercio medio-proximal y se efectuaron en la tibia izquierda dos lesiones separadas por 1,5 cm y en la tibia derecha una lesión del periostio mediante trefina anexada a un minitorno de 3,5 mm de diámetro y de 1,5 mm (+/-20%) de profundidad. Luego de la colocación del material de prueba se procedió a la síntesis de los planos incididos con material de sutura absorbible y piel con sutura permanente, tomando precauciones de mantener condiciones asépticas. Se utilizaron tratamientos postoperatorios analgésicos y antibióticos. Las ecografías de las zonas sometidas a las cirugías se realizaron con un transductor lineal con frecuencia de 14MHz acoplado a un ecógrafo veterinario portátil Doppler color Z6 Vet, bajo sedación, en los tiempos: basal (hasta 72 hs prequirúrgico), 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 16 semanas pos-intervención. Estos monitoreos, fueron acompañados por tomas de muestras de sangre destinadas a la obtención de plasma para la realización de hemogramas y a la obtención de suero para determinaciones bioquímicas. Además, se controló el peso y estado de salud de los animales durante el ensayo. Los resultados de las ecografías arrojaron zonas con hiperecogenicidad alternada de los tejidos adyacentes a la zona de los implantes, que podría asociarse a inflamación local en los tiempos 1 y 2 de monitoreo, y en los tiempos posteriores, esto fue imperceptible. Se detectó también la diferente degradación de los biomateriales en estudio en los tiempos 2, 4, 6, 12 y 16 en el periostio. Concluimos que la ultrasonografía es un método poco invasivo, de fácil realización y de bajo riesgo para los animales que permite un seguimiento de la evolución de los tratamientos a través del tiempo en los tejidos evaluados (hueso, biomateriales y tejidos blandos). Los datos obtenidos mediante ultrasonografía pueden ser correlacionados con los resultados de otras técnicas analíticas, permitiendo de este modo arribar a conclusiones válidas en ensavos preclínicos.

### Palabras clave: ultrasonografía, preclínicos, biomateriales.

#### **MOE-02**

# EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE VITAMINA D SOBRE LA MEMORIA A LARGO PLAZO EN RATONES C57

Martinelli, R.P.<sup>1,2</sup>; Angulo, A.<sup>1</sup>; Manzoni, G.<sup>1</sup>; Farré, C.<sup>3</sup>; Infante, I.<sup>3</sup>; Chapo, G.<sup>3</sup>; Esteban, L.<sup>1</sup>; Pacchioni, A.M.<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Química Biológica, Fac. de Cs. Médicas, UNR. <sup>2</sup>Cátedra de Genética Humana, Fac. de Medicina y Cs. de la Salud, UAI. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos – CIPReB, Fac. de Cs. Médicas. <sup>4</sup>Área Toxicología, Depto. de Cs. de los Alimentos y del Medioambiente, Fac. Cs. Bioqcas y Farmac, UNR. <sup>5</sup>CONICET. Argentina. rominamartinelli1982@gmail.com

#### Área Modelos Experimentales | MOE

La vitamina D es una hormona esteroidea que, además de participar en el metabolismo fosfocálcico, presenta acciones "no clásicas" que podrían evitar o contrarrestar algunas de las consecuencias del proceso de envejecimiento. El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de la suplementación crónica con vitamina D sobre el deterioro cognitivo y la memoria a largo plazo en ratones C57 hembras suplementadas con vitamina D subcutánea. Se trabajó con tres grupos experimentales con 4 animales cada uno: Grupo Control (CO) y los Grupos V1 y V2 a los cuales se les administró una dosis quincenal de vitamina D por vía subcutánea de 42 UI/K y 84 UI/K respectivamente, a partir de las 8 semanas de vida y hasta la semana 24 (Aprobación CICUAL-FCByF: RES Nº 880/2019). El deterioro cognitivo fue evaluado mediante el test de Reconocimiento de un Objeto Nuevo (RON) que se basa en la tendencia espontánea de los roedores a pasar más tiempo explorando un objeto novedoso que uno familiar. El test se realizó en dos días consecutivos, durante el primero se llevó a cabo la habituación y el entrenamiento, y 24 horas más tarde se realizó la prueba. Durante el entrenamiento, el ratón puede explorar 2 objetos idénticos. El día de la prueba, uno de los objetos de entrenamiento se reemplaza por un objeto nuevo. Los experimentos fueron registrados por video y posteriormente se midió el tiempo de exploración mediante el uso de cronómetro y se calculó el Índice de discriminación (ID) mediante la fórmula: T1/(T1 + T2) donde T1 es el tiempo de exploración del objeto nuevo y T2 el del objeto antiguo. El test se llevó a cabo durante el período de exposición a vitamina D y posteriormente se repitió durante la semana 60, luego de un período de 36 semanas sin administración. Durante el período de administración no se registraron diferencias significativas del resultado del RON entre los distintos grupos. Sin embargo, en el experimento realizado durante la semana 60, se observaron diferencias entre los distintos grupos (ANOVA pval=0.024) siendo la media del ID de V1 significativamente menor a la media de V2 (pval=0.019). No se observaron diferencias significativas en el resto de las comparaciones, sin embargo los ID fueron más altos en el grupo V2. Paralelamente se evaluó el peso de los animales pero no se observaron diferencias durante el tratamiento. Por último se evaluó la sobrevida mediante curvas de Kaplan-Meier. A pesar de que se observan diferencias, las mismas no son estadísticamente significativas. Si bien, nuestros resultados son preliminares orientan a pensar que la administración crónica de vitamina D podría impedir el deterioro cognitivo que acompaña al envejecimiento. Experimentos con un mayor número de animales serán realizados para comprobar nuestra hipótesis.

Palabras clave: vitamina D, memoria, envejecimiento.

#### **MOE-03**

# LÍNEA MUTANTE DE RATAS SPRAGUE DAWLEY, DENOMINADAS "TEMBLEQUES" (FENOTIPO DE TEMBLOR), PRESENTAN ALTERACIONES EN LA MADURACIÓN DE SUS OLIGODENDROCITOS

Fontes, F.1; Santos, M.1; Graña, A.2; Breijo, M.1

<sup>1</sup>Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay. <sup>2</sup>Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Uruguay.

mabreijo@gmail.com

En la Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, Universidad de la República (UdelaR), surgió en forma espontánea una mutación en la colonia de ratas Sprague Dawley, que provoca temblores corporales. Mediante diferentes cruzamientos de animales con y sin fenotipo de temblor pudimos determinar que los tembleques portan una mutación autosómica recesiva. Estudios histopatológicos preliminares revelaron una hipomielinización del sistema nervioso central de los animales con sintomatología de temblor, que no es detectable a nivel de sistema nervioso periférico. Los hallazgos fenotípicos e histopatológicos no son compatibles con otros animales mutantes ya descritos. Con el fin de identificar posibles efectos de la mutación sobre las distintas poblaciones celulares del sistema nervioso central, se estudió la expresión génica de precursores de oligodendrocitos (NG2), oligodendrocitos maduros (MBP; PLP1, MOG y CNP), astrocitos (GFAP, AQP4) y microglía (IBA1, TLR4, TGFB1) en ratas mutantes (SDt) y controles (SD) a los 15, 35 y 180 días de edad por RTPCR. Los resultados señalaron que al día 15 la expresión de NG2 en animales SDt fue significativamente superior a los animales SD de la misma edad, sugiriendo una mayor actividad y/o cantidad de precursores de oligodendrocitos en ratas tembleques. Paralelamente, los niveles de expresión de transcriptos MBP, MOG y PLP1 por parte de los oligodendrocitos

#### Área Modelos Experimentales | MOE

maduros responsables de la síntesis de mielina, fueron superiores en ratas normales. Estos resultados sugieren que la mutación "tembleque" afecta la maduración de los oligodendrocitos explicando en parte la hipomielinización central presente en las ratas SDt. La expresión de los transcriptos GFAP por parte de los astrocitos, así como de IBA1, TLR4 y TGFB1 por la microglía en ratas mutantes fue superior hacia el día 180 en relación a las ratas normales (SD). Esta información sugiere la presencia de procesos inflamatorios/regenerativos tendientes a compensar el desbalance generado por el proceso de mielinización alterado.

Todos los procedimientos experimentales del presente trabajo fueron aprobados por el CICUAL de Facultad de Medicina, UdelaR (Exp 070153-000316-16).

Palabras clave: ratas, mielina, oligodendrocitos.

#### **MOE-04**

# PREDICCIÓN DE ANOMALÍAS GAMÉTICO-EMBRIONARIAS TEMPRANAS INDUCIDAS POR EL CONSUMO MATERNO DE ALCOHOL EN MODELOS PRECLÍNICOS DE EXPERIMENTACIÓN

#### Gualdoni, G.; Barril, C.; Jacobo, P.; Cebral, E.

Laboratorio de Reproducción y Fisiología Materno-Embrionaria (LARFIMAE), Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental (IBBEA-CONICET/UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), UBA. Argentina.

giselagualdoni@gmail.com

El consumo materno de alcohol produce el "trastorno del espectro alcohólico fetal" (Fetal Alcohol Spectrum Disorder, FASD), caracterizado por malformaciones congénitas, pérdida gestacional, retraso del crecimiento, alteración del comportamiento y aprendizaje y riesgo de enfermedades de programación intrauterina en el adulto. No existe un único modelo de rata/ratón que represente la totalidad las características del FASD, sin embargo la mayoría de las anomalías de este síndrome en el humano pudieron ser replicadas, con alta equivalencia, en el modelo murino. Particularmente, las colonias exocriadas, de elevado polimorfismo genético similar a la población humana, han sido elegidas para el estudio de la variabilidad de respuestas reproductivo-gestacionales frente a la exposición de xenobióticos. Con el objetivo de detectar vínculos entre potenciales anomalías ovárico-oocitarias y defectos en el desarrollo embrionario temprano por exposición femenina a alcohol, utilizamos 40 hembras de la colonia CF1 (CrIFcen:CF1, Mouse Genome Informatic (MGI) (60 días de edad, de 27-30 g), procedentes del Bioterio Central de la FCEN-UBA. Luego de 15 días de administración de 10% etanol en el agua de bebida (T) o agua sola (C), un grupo de hembras se superovuló (5 UI/hembra de gonadotrofina coriónica equina (eCG) y gonadotrofina coriónica humana (hCG) (Cs y Ts) o no (Ce y Te), para analizar su estado reproductivo; y otro grupo (Cs y Ts, Ce y Te) se colocó en apareo para continuar con la ingesta de alcohol o de agua sola hasta el día 10 de gestación (D10) (D10-Cs y Ts y D10-Ce y Te), para analizar el desarrollo embrionario. La frecuencia de estros, folículos ováricos y cuerpos lúteos (H&E), disminuyó significativamente en Te vs Ce, lo que correlacionó con menor marcación folicular del antígeno nuclear de proliferación celular (IHQ PCNA). En las Ts, el nro. de oocitos ovulados con metafase II anormal, fragmentados y activados partenogenéticamente (microscopia invertida con contraste de fase y con fluorescencia) fue mayor que en Cs (p<0,01, p<0,001). Al D10, en las Ts, el nro. de sitios de implantación disminuyó vs Cs (p<0,05) pero no en las Te vs Ce. En Ts y en Te, el % de embriones retrasados aumentó vs Cs y Ce (p<0,05) a expensas de la reducción del % de embriones avanzados (E10), población que presentó elevado % de anormales (p<0,001). Sin embargo, el % de reabsorciones tempranas, se incrementó solamente en Ts vs Cs. Estos resultados demuestran: a) al factor gamético como potencial etiología epigenética de anomalías embrionarias tempranas, inducidas por consumo materno de alcohol, b) la variabilidad en la respuesta embrio-gestacional frente a la exposición a alcohol de los modelos exocriados con ovulación espontánea e inducida, c) la puesta en evidencia de los efectos deletéreos de un tratamiento toxicológico dependiendo del manejo reproductivo del modelo animal experimental. El modelo murino superovulado podría constituir una herramienta experimental útil para la detección y monitoreo de alteraciones gamético-embrionarios temprana ocasionada por consumo materno de alcohol. (Protocolo CICUAL-FCEN, Nro 57).

Palabras clave: modelo experimental, oocito-embrión, alcohol.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-05**

# ANIMALES DE LABORATORIO NO TRADICIONALES (ALNT) Y SU IMPORTANCIA EN LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Iodice, O.H.<sup>1</sup>; Cervino, C.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto en Ciencias Básicas y Experimentales (ICBE-SeCyT), Universidad de Morón. Machado 914, (1708) Morón, Buenos Aires, Argentina. omariodice@gmail.com

El uso de Modelos Biológicos en la investigación científica ha permitido un extraordinario avance de las Ciencias Biomédicas. La definición y el uso de modelos animales de experimentación en investigación es una temática de difícil abordaje, tanto en lo semántico como en lo bioético. Podemos convenir que el término Modelo Animal conlleva la detección de una especie o grupo animal que permita abordar la resolución de un problema científico biomédico particular. El adecuado uso de Animales de Laboratorio Tradicionales (ALT) ha tenido como resultado un extraordinario avance de las Ciencias Biomédicas. Así, como también, el surgimiento de la Ciencia del Animal de Laboratorio debido al refinamiento, calidad y definición de los modelos en uso. Sin embargo la decisión de utilizar nuevos modelos biológicos experimentales ha logrado resolver problemas que hasta ese momento resultaban imposibles de solucionar; estos nuevos modelos suelen ser animales de la fauna autóctona. Muchas especies silvestres están en vías de ser consideradas de "laboratorio", pero la insuficiente información sobre los sistemas de crianza, mantenimiento en cautividad y la poca difusión de su uso hace que se los considere Animales de Laboratorio No Tradicionales (ALNT), denominación que desde hace muchos años hemos propuesto y difundido. Se puede decir que un animal de laboratorio es "no tradicional" cuando: a) su uso no está generalizado; b) es un modelo animal no validado o está en vías de validación; c) se conocen escasamente sus parámetros clínico-fisiológicos de referencia, y d) no está normalizado su sistema de crianza bajo condiciones de Bioterio a fin de obtener y mantener líneas y cepas estables con historia reproductiva confiable. El objetivo de este trabajo es presentar a los ALNT como alternativas válidas para la investigación biomédica. A partir de estas consideraciones, se analiza y discute: A) los ALNT al ser extraídos desde su ambiente natural, presentan nuevos desafíos a tomar en cuenta acerca del manejo de estos animales en la naturaleza, ente ellas: i) estado de conservación de la especie; ii) captura y transporte; iii) zoonosis; iv) período de adaptación y cuarentena, y v) reinserción de los animales al hábitat natural. B) al momento de considerar el uso de ALNT, hay cinco aspectos que requieren consideraciones especiales y es necesario abordar: 1- Alojamiento y alimentación en cautividad. 2- Pautas de mantenimiento y crecimiento. 3- Manejo farmacológico. 4- Disposición final. 5- Criterios de punto final y métodos de eutanasia. Se presentan tres ejemplos de establecimiento de ALNT: Chaetophractus villosus (peludo); Didelphis albiventris (zarigüeya overa) y Lutreolina crassicaudata (zarigüeya colorada o coligrueso). Se concluye que un ALNT es, en ocasiones, un modelo animal seleccionado por sus características únicas, generalmente es una especie de uso poco común en investigación biomédica. Cuando tales especies se introducen a la investigación, se debe buscar asesoría experta o recopilar información sobre la biología, conducta y condiciones de cautividad de estas especies.

Palabras clave: animales de laboratorio, animales de laboratorio no tradicionales, investigación biomédica.

#### **MOE-06**

# DETECCIÓN DE Norovirus, Astrovirus y Helicobacter spp EN HECES DE COLONIAS DE RATONES DE EXPERIMENTACIÓN DE ARGENTINA

Laborde, J.M.; Carriquiriborde, M.; Cagliada, P.; Maschi, F.; Almirón, J.; Ayala, M.A.

Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires, Argentina. juanmartinlaborde@gmail.com

La presencia de agentes infecciosos en colonias de animales de laboratorio puede modificar sus parámetros fisiológicos y producir alteraciones significativas cuando los mismos son utilizados en

#### Área Modelos Experimentales | MOE

estudios experimentales. Entre los virus de mayor prevalencia se encuentra el Norovirus (MNV) y el Astrovirus (AstV) y, entre las bacterias, el Helicobacter spp. En general, la infección por estos agentes no produce signos clínicos, solo se observan alteraciones anatomopatológicas y de comportamiento en animales que estén sometidos a estrés o que sean inmunodeficientes. Estos patógenos ingresan por vía oronasal y luego se eliminan y transmiten a través de las heces. El MNV y el AstV se replican en el intestino; MNV puede infectar además células inmunes y órganos linfoides y producir neumonía, hepatitis y meningitis. El AstV infecta las células del epitelio intestinal produciendo gastroenteritis. Helicobacter spp. puede producir infecciones persistentes causando inflamación intestinal, prolapso rectal y hepatitis. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de MNV, AstV y Helicobacter spp en colonias de ratones provenientes de instituciones públicas y privadas de Argentina. Se analizaron 20 muestras de pool de heces, provenientes de 20 colonias de ratones de diferentes cepas. Para la detección se utilizó la técnica de PCR y RT-PCR utilizando equipos comerciales de extracción de ácido nucleico y primers específicos para la amplificación de cada agente. La positividad se evidenció por la presencia de fragmentos de 625 pb y 312 pb para MNV y AstV respectivamente y de 963 pb para Helicobacter spp. Dieciséis bioterios resultaron positivos para al menos uno de los agentes controlados. De ellos, 16 fueron positivos para MNV, 12 fueron positivos para AstV y 15 fueron positivos para Helicobacter spp. Se concluyó que la investigación de estos patógenos por PCR es confiable, sensible y permite optimizar la precisión de los resultados cuando se realiza un control sanitario en colonias de ratones de laboratorio.

El presente estudio fue realizado con las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación y con el número de resolución del CICUAL 90-1-18P de la FCV.UNLP.

Palabras clave: animales de laboratorio, control sanitario, Norovirus, Astrovirus, Helicobacter spp.

#### **MOE-07**

# DESARROLLO Y COMPROBACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL ACCESIBLE Y REPRODUCIBLE DE GASTRECTOMÍA EN MANGA EN NUESTRO MEDIO

Signorini, F.J.<sup>1,2</sup>; Rossi, M.C.<sup>1,2</sup>; Castillo, T.<sup>1</sup>; Andrada, M.<sup>1</sup>; Scribano Parada, M.P.<sup>2</sup>; Moser, F.<sup>1</sup>; Baez, M.C.<sup>2</sup>; Moya, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hospital Privado Universitario de Córdoba; <sup>2</sup>Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. fransign@hotmail.com

A partir los resultados positivos que ha mostrado la cirugía bariátrica sobre el síndrome metabólico (SM) y que probablemente no se deban exclusivamente a la pérdida de peso, resulta pertinente analizar las modificaciones de indicadores de SM, biomarcadores inflamatorios y de estrés oxidativo en un modelo experimental de SM y sometidos a gastrectomía en manga. Los modelos experimentales para tal fin hasta ahora descriptos resultan de compleja reproducción además de costosos. El presente trabajo tiene como objeto lograr sistematizar un modelo experimental de gastrectomía en manga en ratas, accesible y fácilmente reproducible para poder incrementar los conocimientos sobre los cambios metabólicos generados por la cirugía. Se realizó un estudio utilizando ratas Wistar macho. Los animales se dividieron en 6 grupos de 12 ratas cada uno: control (C), inducción del síndrome metabólico (SM), gastrectomía en manga (GM), SM + GM durante 6 (GM6), 12 (GM12) y 24 (GM24) semanas. Se evaluaron variables oxidativas (óxido nítrico, fibrinógeno, superóxido dismutasa, miloperoxidasa), metabólicas (glucosa en sangre, triglicéridos (TG), colesterol total, LDL, HDL e índice TG / HDL-C), pérdida de peso e ingesta alimentaria. SM fue inducido por administración de fructosa al 10% diluida en agua de bebida durante 6 semanas. Se realizó una GM asegurando una restricción gástrica de al menos un 80%. Se administró agua enriquecida con fructosa 10% ad libitum en el post operatorio inmediato, reiniciando la dieta al día siguiente. Observamos el estado inflamatorio y estrés oxidativo analizando fibrinógeno (mg/dL), óxido nítrico (NO) (μM), superóxido dismutasa (SOD) (U/mL) por espectrofotometría y mieloperoxidasa (MPO) (UI) por ELISA. El perfil metabólico se estudió valorando glucemia, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL y el índice TG/HDL-C mediante métodos enzimáticos comerciales. Se aplicó test de LSD Fisher y Hotelling como test post hoc, nivel de significación de p<0.05. Res. CICUAL no. 49/17. De las 72 ratas iniciales, 6 murieron después de la cirugía. La glucemia fue máxima en el grupo SM (235 ± 10,7) y mostró diferencias estadísticas respecto al resto de los grupos (p <0,001 en todos los casos). No se encontraron diferencias al comparar C ( $126 \pm 2,4$ ) con GM (116,25 ± 19), GM12 (147,71 ± 12) y GM24 (131,83 ± 10,4) o estos grupos entre sí. Los niveles de

#### Área Modelos Experimentales | MOE

triglicéridos fueron mayores en el grupo de SM (116,5 ± 18) y se logró una diferencia estadística al comparar este grupo con el resto que no tuvieron diferencias significativas entre sí. El resto del perfil lipídico se comportó de manera similar. Los resultados de las variables plasmáticas: fibrinógeno, NO, SOD y MPO mostraron diferencias significativas al comparar el grupo SM con el resto de los grupos y sin significación al comparar los demás grupos entre sí. El procedimiento demostró ser seguro y reproducible. La inducción de SM mediante fructosa mostró una alteración estadísticamente significativa de las variables analizadas. La GM indujo una mejora de las variables afectadas demostrando que el modelo replica el comportamiento metabólico observado a nivel clínico.

Palabras clave: gastrectomía en manga, síndrome metabólico, estrés oxidativo.

#### **MOE-08**

# EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ANGIOGÉNICOS DE UN NUEVO VIDRIO BIOACTIVO EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA (Danio rerio)

García, R.1; Vargas, G.1; Gorustovich, A.2

<sup>1</sup>Cátedra de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. <sup>2</sup>IESIING-UCASAL,INTECIN-UBA-CONICET, Salta, Argentina. romygarcya@gmail.com

Es creciente el interés en el desarrollo de biomateriales con propiedades angiogénicas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos angiogénicos de los productos iónicos de disolución (PID) del nuevo vidrio bioactivo (vb) 53S (53%SiO2, 24%CaO, 23% Na2O) en embriones de pez cebra dado sus ventajas experimentales en relación a otros modelos animales in vivo. Los PID se obtuvieron por incubación de micropartículas (<5 µm) de vb 53S en medio embrionario (ME) a 37°C durante 72 h. Se utilizaron embriones decorionados y despigmentados de 48 h post fecundación (hpf). Se incubaron durante 24 h a 28,5°C en 5 mL de ME, ME suplementado con factor de crecimiento de fibroblastos (ME + FGF) y ME enriquecido con los PID (ME + 53S). Se realizaron 3 repeticiones con n=30 embriones por tratamiento. A las 72 hpf, los embriones se anestesiaron con tricaína, sometieron a enfriamiento rápido para su eutanasia y se fijaron en paraformaldehído al 4%. Se cuantificaron los vasos sanguíneos neoformados en el plexo vascular subintestinal (pvs) mediante la detección histoquímica de fosfatasa alcalina. Los experimentos fueron aprobados por el CICUALEC de la Facultad de Ciencias Naturales (R-DNAT-2019-0290). Los PID del vb 53S demostraron capacidad angiogénica evidenciada por un aumento estadísticamente significativo (p<0,05) del número de arcadas, ramificaciones y brotes vasculares del pvs similar al observado en los embriones tratados con FGF. En base a este hallazgo los PID del vidrio bioactivo 53S tendrían potencial aplicación como agentes angiogénicos inorgánicos en diferentes estrategias de medicina regenerativa e ingeniería de tejidos que requieran un alto grado de vascularización.

Palabras clave: embriones de pez cebra, vidrio bioactivo, angiogénesis.

#### **MOE-09**

# DISCREPANCIAS EN LA INFORMACIÓN SOBRE EL MODELO IMIQUIMOD PARA EL ESTUDIO DE LA PSORIARIS

#### Vinardell, M.P.; Mitjans, M.

Departament de Bioquimica i Fisiologia, Facultat de Farmàcia i Ciències de la Alimentació, Universitat de Barcelona, Barcelona. España.

Mpvinardellmh@ub.edu

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que afecta a un 2-3% de la población mundial. Mucho del conocimiento que se tiene de esta enfermedad es por modelos *in vitro* e *in vivo* desarrollados para intentar reproducir la enfermedad y conocer sus mecanismos de patogénesis, así como para el desarrollo de nuevas terapias. Uno de los modelos más utilizados y económicos es el modelo basado en la aplicación sobre la piel depilada de ratones de 5% de imiquimod en forma de una crema comercial de fácil adquisión. Numerosos estudios que describen esta y otras metodologías no lo hacen con el detalle

#### Área Modelos Experimentales | MOE

suficiente. Esto es fundamental para los investigadores que quieren realizar este tipo de estudio y también para considerar la validez de los mismos. En esta revisión se han seleccionado 100 artículos de los últimos cinco años en los que se utiliza el modelo imiquimod para el desarrollo de psoriasis. Se ha anotado toda la información relativa al animal, cepas, sexo, dosis de imiquimod, zona de administración, uso de controles, información sobre el alojamiento de los animales, el uso de anestesia y el tipo de eutanasia, número de animales por grupo, así como el seguimiento o no de las guías ARRIVE o la información relativa a la aprobación por los respectivos comités éticos. De los datos obtenidos se puede concluir que muchos de los estudios aportan una información muy pobre en relación al alojamiento de los animales, al uso o no de anestesia y a la eutanasia de los animales y solo cuatro estudios (4%) informan de la aplicación de las guías ARRIVE. La adecuada información aportada en los estudios favorece la utilidad de los mimos para evitar estudios innecesarios con poca relevancia en la aplicación clínica resultando de gran importancia desde el punto de vista de la ética de la experimentación animal. Una descripción adecuada de la metodología utilizada permite reducir el número de animales de experimentación, así como refinar las técnicas siguiendo el principio de las 3Rs.

Palabras clave: psoriasis, ARRIVE, metodología.

#### **MOE-10**

# SESGO DE SEXO EN ESTUDIOS PRECLÍNICOS: EL CASO DEL EFECTO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Vinardell, M.P.; Mitjans, M.

Departament de Bioquimica i Fisiologia, Facultat de Farmàcia i Ciències de la Alimentació, Universitat de Barcelona, Barcelona. España.

Mpvinardellmh@ub.edu

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa irreversible y progresiva caracterizada por una pérdida de memoria, de habilidades de lenguaje y cognitivas. Es la forma de demencia más común en ancianos y representa un gran problema de salud pública debido al incremento de la esperanza de vida de la población. En los últimos años se han realizado estudios que demuestran la asociación entre la enfermedad y cambios de la microbiota intestinal. Estos estudios se han realizado utilizando diferentes modelos animales, principalmente animales transgénicos. A pesar de que la mayoría de las personas diagnosticadas de Alzheimer son mujeres, los estudios preclínicos se suelen realizar utilizando animales machos. En este trabajo se ha realizado una búsqueda en la literatura de los últimos cinco años para investigar si existe sesgo de sexo en estos estudios que investigan como afecta la microbiota al Alzheimer. Se han buscado artículos en inglés utilizando los términos: "animal model and Alzheimer and microbiota". Como criterio de inclusión se ha considerado los estudios realizados en roedores y se han excluidos aquellas publicaciones que no eran trabajos de investigación (revisiones, opiniones, cartas, etc), estudios en humanos, modelos invertebrados y otros modelos. De los 35 trabajos seleccionados el 65% utilizaba animales macho y solamente el 20% utilizaba ambos sexos. En la mayoría no se daba una explicación sobre el motivo de la elección de un determinado sexo. En conclusión, esta revisión muestra que todavía existe una brecha en los estudios preclínicos de Alzheimer, a pesar de las recomendaciones internacionales que recomiendan utilizar ambos sexos en los estudios. Pero no es el único caso y muchos estudios preclínicos para el estudio de diferentes enfermedades y su tratamiento utilizan un solo sexo. Palabras clave: Alzheimer, microbiota intestinal, sesgo.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-11**

# LEVANTAMIENTO DE LAS CURVAS DE CRECIMIENTO DE ANIMALES DE COLONIA, CRÍAS Y DESTETOS DE RATAS WISTAR

Camargo-Bran, E.Y.<sup>1</sup>; Gómez-Fonseca, A.M.<sup>2</sup>; Vaca-González, J.J.<sup>3</sup>; Ospina, L.F.<sup>1</sup>; Cajiao-Pachón, M.N.<sup>1</sup>; Córdoba-Parra, J.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Especialización en Bienestar Animal y Etología, UNIAGRARIA, Colombia. <sup>2</sup>Universidad de los Andes, Colombia. <sup>3</sup>Facultad de Ciencia de la Salud y del Deporte. Fundación Universitaria del Área Andina. Colombia.

yanethcamargob@gmail.com

Los animales que se utilizaron en este proyecto estuvieron autorizados bajo REF: CICUAL\_18-008 -"SOLICITUD USO DE ANIMALES PARA PRUEBAS DE ESTANDARIZACIÓN" Bogotá DC, 20 de junio de 2018. El objetivo general del trabajo fue generar las curvas de crecimiento de tres grupos de animales utilizados en el Laboratorio de Neurociencias y Comportamiento de la Universidad de los Andes: animales de colonia, crías lactantes y destetos. Se utilizaron 180 ratas Wistar distribuidas en tres grupos: 1) 6 hembras de colonia evaluadas durante tres semanas que representa el primer ciclo de gestación y 6 machos de colonia evaluados durante trece semanas, 2) 86 crías evaluadas desde el segundo día pos-natal hasta la tercera semana de vida, 3) 82 destetos evaluados de la tercera a la séptima semana de vida, no es el mismo número de animales crías ya que se debió entregar a un proyecto de investigación. Se realizó el seguimiento diario del peso de los animales de cada grupo y se registró en planillas estandarizadas de peso vivo obtenido. Para hallar el Pico de Velocidad de Crecimiento (PVC) se realizó un análisis de regresión lineal simple. Se estimaron correlaciones entre las variables de edad, peso y PVC por medio del coeficiente de correlación de Pearson (p<0.001) con el fin de determinar la significancia. Con base en las progresiones del peso de los animales de cada grupo para el período de datos analizados se calcularon tres ecuaciones lineales basadas en el método expuesto en Cossio-Bolaños (2012). La ecuación utilizada en este estudio fue:  $y=\beta 0+\beta 1x1+\beta 2x2$   $y=\beta 0+\beta 1x1+\beta 2x2$ . Resultados: Machos colonia: PVC día 69 de vida; punto de inflexión semana 10; delta del peso promedio 5,02gr. Mejor ajuste lineal: semanas 11 a 13 y 18 a 20. Hembras: aumento de peso de 137gr desde el día 0 hasta el día 20 de gestación. PVC: día 156 día de vida (día anterior al parto). Aumento de peso de 8,08gr. Destetos: mayor desarrollo de masa corporal en la semana cinco, delta de 7,92gr. PVC: 35 días de vida. Crías: máximo crecimiento el día 19 de nacidos. PVC con 3,86 gr. El punto de inflexión se determinó cuando el crecimiento fue más acelerado y se presentó a la par con el pico de velocidad de crecimiento, el ajuste lineal se estableció en las semanas que el crecimiento fue más estable. Se concluye que la curva de las hembras presentó una forma más aplanada y con menos tendencia asintótica, con su máximo crecimiento al final del período de gestación. En el caso de los machos colonia la curva fue ascendente de forma regular, encontrándose más picos de crecimiento durante al tiempo de seguimiento. Para los destetos la curva se ajusta a una recta dando una relación lineal entre la edad y el peso de los animales.

Palabras clave: curva de crecimiento, pico de velocidad de crecimiento, ratas Wistar.

#### **MOE-12**

# MODELOS EXPERIMENTALES IN VITRO PARA EL ESTUDIO DEL DESARROLLO PERI-IMPLANTATORIO EN MODELOS MURINOS. RENDIMIENTO Y CALIDAD.

Barril, C.; Gualdoni, G.; Jacobo, P.; Cebral, E.

Laboratorio de Reproducción y Fisiología Materno-Embrionaria (LARFIMAE), Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental (IBBEA-CONICET/UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), UBA.

camilabarril1995@gmail.com

Durante el desarrollo peri-implantativo, el embrión transita por la segmentación (estadios TS1-2), compactación (TS3), cavitación (TS4) y expansión (TS4.5) hasta alcanzar las fases de implantación (TS5-8). La dinámica del crecimiento, desarrollo y morfogénesis embrionaria en estos períodos ha sido ampliamente estudiada utilizando modelos murinos (ratón). En particular, se han empleado diversos

#### Área Modelos Experimentales | MOE

sistemas de cultivo, tanto para el estudio de los procesos celulares-moleculares directores de la embriogénesis temprana sino también para el diagnóstico genético prenatal y tests de embriotoxicidad para el monitoreo de fármacos, drogas y xenobióticos. El establecimiento de condiciones óptimas del cultivo peri-implantatorio y la elección del sistema de cultivo (SC), que refleje los eventos del desarrollo in vivo es de relevancia para la obtención de resultados confiables y adecuada interpretación del desarrollo temprano con la aplicación de metodologías experimentales in vitro. Con el objetivo de analizar comparativamente, la dinámica, calidad y eficiencia del desarrollo in vitro peri-implantatorio, se utilizaron los siguientes SC en 5% CO<sub>2</sub> en aire a 37°C: a) Cultivo de 6 días (D6) de cigotas derivadas de FIV (Fertilización in vitro) de ratón F1(C57/BlxCBA) (SC1); b) Cultivo de embriones de 2-células por 7 días, derivados de ratón CF1 (SC2); c) Cultivo de blastocistos de 5 dpc, por 3 días, derivados de CD1 (SC3). Los estadios embrionarios alcanzados se determinaron según la escala de Theiler (TS) en microscopio invertido con contraste de fase. Durante la fase de preimplantación (TS1-TS4.5), el SC1 presentó menor velocidad de clivaje y diferenciación embrionaria que el SC2: con el primero, el estadio TS4.5 se alcanzó con 5 días de cultivo mientras que con el segundo fue a los 3 días. El mayor % de embriones de mayor grado de desarrollo se obtuvo con el SC2: el 55% de embriones de 4-céls (estadio TS2) se desarrolló al D2 con SC1 pero el 65% lo hizo al D1 con el SC2; el 61% de mórulas compactadas (TS3) se desarrolló al D3 con el SC1, aunque el 45% de mórulas llegó al D2 con el SC2; el 13% de blastocistos expandidos (TS4) se desarrolló al D4 con el SC1 vs el 32% al D2 con el SC2. El 15% de blastocistos hatching (TS4.5) se desarrolló al D5 con el SC1, mientras que el 55% lo hizo al D3 con el SC2. Sin embargo, el SC1 permitió obtener embriones de mejor calidad (menor fragmentación) que el SC2. Durante la implantación in vitro, en fase de aposición/adhesión (TS6), con el SC2 se obtuvo 38% de embriones vs 70% con el SC3. En fase de invasión temprana (TS7), SC2 tuvo 58% de embriones vs SC3 con 60%. En fase invasión final (TS8), con el SC2 se obtuvo 100% de embriones y con SC3 el 46%. Sin embargo, con el SC3 presentó 36% de embriones más avanzados vs el 16% obtenido con el SC2, el que mostró desarrollo implantativo retrasado. En conclusión, para estudios in vitro de fases de preimplantación se aconseja el uso del SC2, mientras que para eventos implantativos se recomienda el uso del SC3, sistemas a ajustarse según el modelo animal experimental.

Protocolo experimental n° 57 - CICUAL FCEyN-UBA.

Palabras clave: modelo experimental, cultivo peri-implantatorio, ratón.

#### **MOE-13**

#### MARCACIÓN CON TETRACICLINA DE TEJIDO DENTARIO DE RATAS

### Aravena, A.<sup>1</sup>; Mandalunis, P.<sup>2</sup>; Brun, L.R.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Medicina. UNR. <sup>2</sup>Cátedra de Histología y Embriología General. Facultad de Odontología. UBA. <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Ósea. Facultad de Medicina. UNR. Argentina.

dds.aravena@gmail.com

La tetraciclina es una droga que se asocia con los átomos de calcio depositados en las superficies mineralizadas de hueso y tejido dentario recientemente formado, por lo que provee un marcador permanente fluorescente que revela la posición de la superficie de crecimiento luego de la inyección. Múltiples inyecciones de tetraciclina proveen una serie de marcaciones que se ven bajo la luz de un microscopio de fluorescencia en secciones del tejido como anillos concéntricos. La distancia entre las bandas fluorescentes puede ser medida para estimar el ratio de aposición ósea o de tejido dentario en intervalos específicos. Para llevar a cabo este método histomorfométrico se inyectaron tres dosis (10 mg/kg; 0.1 ml tetraciclina 1%/100 g de peso corporal) a ratas Sprague Dawley de 14 días de edad de ambos sexos con un intervalo de tiempo preestablecido (7 días). Finalizado el tiempo experimental se procedió a la obtención de las hemimandíbulas, que se procesaron mediante la inclusión en metilmetacrilato. Se realizaron cortes por desgaste de 50 µm y se observaron con un microscopio de fluorescencia. Los cortes se realizaron en sentido sagital de la mandíbula, pudiendo observarse los tres molares y el incisivo con sus respectivos tejidos calcificados (esmalte y dentina). Este método de histomorfometría dinámica ampliamente utilizado en tejido óseo nos permite evaluar variaciones en el desarrollo aposicional de tejidos dentarios como la dentina y el esmalte.

Este estudio se encuentra enmarcado en una tesis doctoral aprobada por los correspondientes Comité de Bioética y de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNR.

Palabras clave: tetraciclina; histomorfometría, tejidos dentarios.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-14**

ESTABLECIMIENTO DE UN MODELO DE FERROPTOSIS PARA EL ESTUDIO DE PROCESOS NEURODEGENERATIVOS ASOCIADOS CON PÉRDIDA DE MOTRICIDAD EN RATONES C57BL/6

Maniscalchi, A.¹; Benzi Juncos, O.N.¹,²; Funk, M.¹,²; Alza, N.A.¹,³; Conde, M.A.¹,²; Fermento, E.¹,²; Gallardo, G.¹; Nicasio, M.L.¹; Uranga, R.M.¹,²; Salvador, G.A.¹,² ¹Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), Universidad Nacional del Sur (UNS). ²Depto. de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF-UNS), ³Depto. de Química (UNS). Argentina.

amaniscalchi@inibibb-conicet.gob.ar

Se considera que la acumulación de hierro (Fe) en distintas regiones del cerebro está relacionada con patologías neurodegenerativas tales como la enfermedad de Parkinson (EP). Hemos caracterizado este fenómeno utilizando métodos alternativos de reemplazo absoluto a la investigación con modelos animales. Demostramos que la exposición de neuronas dopaminérgicas a Fe induce el aumento de la expresión de αsinucleína, acompañada de un aumento de los peróxidos lipídicos, de la expresión de la fosfolipasa A2 y una reducción de la viabilidad celular. Todas estas características corresponden a eventos de neurotoxicidad disparados por ferroptosis, un tipo de muerte celular programada dependiente de Fe que se inicia por la falla de las defensas antioxidantes. Los objetivos de este trabajo fueron describir y caracterizar un modelo animal de EP inducido por sobrecarga de Fe con impacto en la función motora. Para la inducción de la sobrecarga de Fe se utilizaron ratones C57BL/6 de 2 meses de edad (hembras y machos de entre 20-25 q de peso total). Se realizaron 4 inyecciones intraperitoneales cada 5 días con una solución compuesta por Fe-sacarato (200 o 333 mg/kg peso) o de solución fisiológica (grupo control). El estado de salud de los animales fue evaluado por la Méd. Vet. a cargo del Bioterio. La motricidad se evaluó mediante los test de campo abierto y de las huellas de las pisadas (footprint) y los parámetros bioquímicos e histológicos fueron evaluados en tejidos obtenidos post-mortem. El contenido de peróxidos lípidos y de dienos y trienos conjugados fue dependiente de la dosis utilizada para la sobrecarga de Fe y aumentó entre un 200 y un 500 % con respecto a los individuos control (p<0,001). La actividad de la enzima antioxidante catalasa aumentó un 100 % (p<0,0005) en el grupo tratado con 200 mg Fe/kg de peso. Los animales sometidos al esquema completo de sobrecarga de Fe de la dosis más alta (1332 mg) demostraron una disminución en la motricidad del 60 % en cuanto a la longitud recorrida en el test de campo abierto, asociada con una mayor permanencia en el exterior del cuadrilátero (20 %; p<0,05) junto con un retraso de la huella de la pata delantera. Los cortes histológicos (transversales) en la zona del bregma encefálico, mostraron una mayor inmunomarcación con GFAP (glial fibrilar acidic protein) (p<0,0296), evidenciando una gliosis exacerbada, asociada con edematización celular (p<0,0004) y de vasos sanguíneos (p<0,0005) en las tinciones con hematoxilina-eosina. Se concluye que la sobrecarga de Fe por vía intraperitoneal dispara estrés oxidativo generalizado que, en sistema nervioso central, se manifiesta con la presencia de marcadores de ferroptosis, lo que se asocia a alteraciones en la función motora. La acumulación de Fe en sistema nervioso se propone como un modelo inducido para el estudio y la caracterización de eventos moleculares asociados al daño y muerte neuronal en la EP.

Palabras clave: estrés oxidativo, ferroptosis, enfermedad de Parkinson.

Protocolo Aprobado: CICUAE -CDBByF 041/21-Universidad Nacional del Sur.

Financiamiento: PGI-UNS: 24B292-PICT-2017-0224.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-15**

# ESTUDIO DE TOXICIDAD DE VIDRIOS BIOACTIVOS EN EMBRIONES DE PEZ CEBRA (Danio rerio)

García, R.<sup>1</sup>; Vargas, G.<sup>1</sup>; Gorustovich, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta, Argentina. <sup>2</sup>IESIING-UCASAL, INTECIN-UBA-CONICET, Salta, Argentina. romygarcya@gmail.com

Los embriones de pez cebra ofrecen grandes ventajas experimentales para el estudio de potenciales efectos tóxicos de nuevos biomateriales. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos toxicológicos de los productos iónicos de disolución de vidrios bioactivos del sistema SiO2-CaO-Na2O-P2O5 modificado con 1,5% y 5% (en peso) de Li<sub>2</sub>O en embriones de pez cebra. Los productos iónicos de disolución fueron obtenidos mediante la incubación de 1% p/v de partículas (<5 μm) de vidrio bioactivo en medio embrionario (ME). Las muestras se incubaron a 37°C en un agitador orbital durante 72 h, luego fueron centrifugadas a 2.500 rpm durante 5 min, filtradas con una membrana de acetato de celulosa de 0,2 µm y se ajustó el pH a 7. La determinación de los iones solubles lixiviados a partir de los vidrios bioactivos se realizó mediante espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Para el ensayo de toxicidad se utilizaron embriones de 48 h post fecundación (hpf) previamente decorionados manualmente con instrumental ad hoc. Los embriones se incubaron a 28,5°C durante 3 d en placas de 6 pocillos conteniendo 5 mL de ME (control) o ME enriquecido con los productos iónicos de disolución de los vidrios bioactivos. Se realizaron 2 repeticiones con n=30 embriones por tratamiento. El desarrollo embrionario y/o larvario se monitoreó cada 24 h y se registró el porcentaje de supervivencia a las 120 hpf. Las larvas se anestesiaron con tricaína (0,04 mg/mL), luego se sometieron a un enfriamiento rápido para su eutanasia mediante inmersión en baño de agua a 2-4°C y se fijaron en paraformaldehído al 4% para la posterior evaluación de los caracteres morfológicos externos descriptos por Kimmel et al. [Dev Dyn. 1995; 203(3):253-310] y Parichy et al. [Dev Dyn. 2009; 238(12):2975-3015]. Los experimentos fueron aprobados por el CICUALEC de la Facultad de Ciencias Naturales (R-CDNAT-2019-0290). En todos los casos se evidenció un desarrollo embrionario y larvario normal, observándose las características morfológicas diagnósticas para cada tiempo de incubación. La supervivencia de los embriones incubados en medio embrionario (control), así como los tratados con los productos iónicos de disolución de los vidrios bioactivos fue del 100%. Los resultados obtenidos demostraron la biocompatibilidad de los productos iónicos de disolución liberados a partir de micropartículas de los vidrios bioactivos en estudio.

Palabras clave: embriones de pez cebra, vidrio bioactivo, toxicidad.

#### **MOE-16**

# CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO DE CHAGAS MURINO EXPERIMENTAL CON LA CEPA Dm28c DE Trypanosoma cruzi

de Hernández, A.1; Cribb, P.1,2; Villar S.3

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. <sup>2</sup>Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR-CONICET-UNR). <sup>3</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET-UNR). Argentina. m.azul.dh@qmail.com

La enfermedad de Chagas es una afección parasitaria endémica en América latina. Es causada por el protozoario flagelado *Trypanosoma cruzi* y genera 30000 nuevos casos anuales. Existen diversos modelos experimentales de enfermedad de Chagas, utilizando cepas de *T. cruzi* como Colombian, Tulahuen, CL Brener, Brazil, Y y SylvioX10. Sin embargo, respecto a la cepa Dm28c, la cual es utilizada por nuestro grupo para estudios de biología celular y molecular, existen unos pocos reportes, por lo que decidimos caracterizar un modelo de infección de ratones BALB/c con la cepa Dm28c de *T. cruzi*. Se realizaron experimentos utilizando ratones BALB/c de 6-8 semanas de edad, criados y mantenidos en el Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPREB). Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con los protocolos recomendados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio

#### Área Modelos Experimentales | MOE

(CICUAL) de FCM-UNR, los que fueron aprobados mediante Resolución CD nº 2477/2016. Para la primoinfección se utilizaron tripomastigotes de T. cruzi Dm28c obtenidos a partir de un modelo de infección in vitro de células Vero. En primer lugar, se infectaron animales con dos dosis (1000-5000 parásitos/ratón, n=4), determinando que la infección con 1000 tripomastigotes/ratón permitiría evaluar la evolución de la infección. Luego, se realizó un experimento con 24 animales, infectando 18 con la dosis establecida (1000 tripomastigotes/ratón) y dejando 6 animales como control no infectado. Se sacrificaron animales a distintos días post-infección (dpi) (5, 7, 10, 14 y 21 dpi, n=3-4) y se caracterizaron los siguientes parámetros: sobrevida, estado general del animal, parasitemia, grado de cardiopatía y peso del bazo. El pico de parasitemia se estimó entre los 10 y 14 dpi. Se observó un aumento en el peso del bazo desde el día 7pi, alcanzando un máximo de unas 6 veces respecto al control no infectado en los días 14 y 21 pi. Los corazones fueron tratados por técnicas histopatológicas y se obtuvieron cortes de tejido cardíaco en los que se evaluó la presencia de nidos de amastigotes e infiltrado inflamatorio teniendo en cuenta su tamaño y tipo de foco, para estimar la gravedad de la miocarditis. Los tejidos cardíacos presentaron cardiopatías difusas a partir del quinto día pi y se volvió más intenso en los días 14 y 21 pi. En concordancia con los infiltrados, se hallaron nidos de amastigotes en los días 10, 14 y 21 pi. Al día 56 pi, se sacrificaron los animales mantenidos para evaluar sobrevida, los cuales mostraron buen estado general, no se detectaron parásitos en sangre o tejidos ni signos de infección de acuerdo a los parámetros evaluados. En conjunto, estos resultados demuestran que la cepa no es letal y es poco agresiva con los animales, pero generan una infección con parasitemias altas y alteraciones en los órganos estudiados que parecen evolucionar favorablemente tras superar el pico de parasitemia. En base a lo observado en este trabajo, concluimos que el modelo descripto resulta novedoso como modelo de Chagas murino experimental. Palabras clave: modelo, Chagas, miocarditis.

#### **MOE-17**

# EFECTO IN VIVO DEL EGTA EN EPITELIOS EN PEZ CEBRA. ANÁLISIS EN UN MODELO DE MIGRACIÓN CELULAR COLECTIVA

Sampedro, M.F.<sup>1</sup>; Miño, G.L.<sup>1</sup>; Sigot, V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigación y Desarrollo en Bioingeniería y Bioinformática (IBB - CONICET - UNER), Oro Verde (ER). Argentina.

fsampedro@ingenieria.uner.edu.ar

Uno de modelos mejor estudiados de migración celular colectiva es el primordio de la línea lateral posterior (pLLP) del pez cebra, una estructura dinámica que sufre cambios progresivos en el comportamiento y la morfología de sus células a medida que migra. Deriva de la placoda de pLL y comienza a migrar caudalmente a las 22 hpf (horas post fertilización) como un grupo cohesivo de alrededor de 120 células. Las células del frente migratorio tienen características mesenquimales; y hacia la región posterior las células comienzan a ser más altas y forman rosetas epiteliales (protoneuromastos). Esta epitelialización polarizada se caracteriza por un gradiente de expresión de cadherina epitelial (cadh-E), una molécula de adhesión celular crucial para mantener la integridad física de los epitelios. Hoy existe escasa bibliografía que muestre el efecto in vivo del ácido egtázico (EGTA), como quelante de Ca2+ y desestabilizante de contactos celulares en epitelios en pez cebra. Evaluar su rol, nos permitirá entender la relevancia de cadh-E en este modelo de migración colectiva. En primer lugar, cuantificamos la dinámica celular local del pLLP mediante el plug-in PIV (Particle Image Velocimetry) en FIJI, sobre imágenes de time lapse de ocho embriones de 27-29 hpf sin tratar, que expresaron transitoriamente cadh-E-GFP; en una escala de tiempo corta de una hora de migración. El análisis de datos reveló que, las velocidades locales mostraron heterogeneidades espacio-temporales en su magnitud, pero estuvieron polarizadas en la dirección de migración (rostro-caudal). Inesperadamente, los campos de velocidad local revelaron fluctuaciones temporales que permitirían distinguir el frente migratorio del extremo posterior, lo que podría predecir el grado de epitelialización. Luego, para evaluar el rol de la integridad epitelial en el mantenimiento del patrón de migración se realizó la puesta a punto del tratamiento con EGTA sobre embriones salvajes de 22-29 hpf que se incubaron en una solución de 25 mM a 28°C durante 15, 30 y 60 min. Se analizó el efecto del tratamiento a nivel de la integridad de los contactos celulares, mediante inmunodetección de cadh-E y marcación con QDts. Además, se evaluó el porcentaje de sobrevida de embriones 24 horas después del tratamiento. Los resultados demuestran que un tratamiento de exposición de 15 min es suficiente para

#### Área Modelos Experimentales | MOE

observar un efecto a nivel de contactos célula-célula, asegurando la viabilidad del embrión. Una vez determinadas las condiciones de incubación, el procesamiento y análisis de imágenes de embriones cadh-E-GFP tratados con EGTA en experimentos *in vivo* se realizó de la misma manera que para los embriones no tratados. Estos primeros resultados nos permiten hipotetizar que existe una correlación entre el patrón espacio-temporal de expresión de cadh-E y el patrón de velocidades locales en el pLLP.

Palabras clave: migración colectiva, primordio de la línea lateral posterior, EGTA. Exp CYSTE-CES-00598/2021

#### **MOE-18**

# PRESENCIA DE Syphacia obvelata Y CRECIMIENTO EN RATONES SELECCIONADOS POR PESO

#### Barbero, U.1; Orozco, N.2; González Beltrán, S.2,3,4; Oyarzabal, M.I.2

<sup>1</sup>Becario del Programa de Becas de Promoción de Actividades Científicas y Tecnológicas. FCV. UNR. <sup>2</sup>Centro de Investigación con Animales de Laboratorio (CIAL). FCV. UNR. <sup>3</sup>Enfermedades Parasitarias. FCV. UNR. <sup>4</sup>Consejo de Investigaciones, UNR. Argentina. uriel.barbero@hotmail.com

En trabajos anteriores realizados en el Centro de Investigaciones con Animales de Laboratorio (CIAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNR, en una población testigo y dos pares de líneas de selección divergente de peso a los 49 días de edad, originadas a partir de animales de una población testigo de Mus musculus de la cepa CF1, se demostró que las hembras presentaban un menor número de huevos (NH) mediano del nematode gastrointestinal Syphacia obvelata que los machos, y una menor prevalencia para los animales de una línea seleccionada para alto peso. Estos resultados se obtuvieron exclusivamente a los 49 días de edad de los ratones. Por otro lado, se demostró que la selección de peso modificó las curvas de crecimiento de estas líneas. Se propuso probar si la presencia de oxiuros modifica el proceso de crecimiento de los animales (CICUAL FCV-UNR Expte. 009765). Se registraron semanalmente los pesos (P) desde los 28 hasta los 112 días de edad para dos grupos de machos: parasitados naturalmente y desparasitados cada 15 días con febendazol al 10% en el alimento. Cada 15 días, desde los 28 días de edad, se tomaron muestras de la región anal y perianal mediante la técnica de Graham, entre las 10 y las 12 hs. Se adhirió la cinta a un portaobjeto y bajo microscopio óptico, se contó el NH por animal. Se siguieron en promedio 5 machos por líneay grupo. Para cada animal se estimó la mediana de la carga del NH en las siete lecturas y luego se estimó la mediana de las medianas individuales. A los pesos observados, se les ajustó el modelo de la curva logística:  $Y_{ij} = k / (1 + exp ((b - X_i/a)))$  donde  $Y_{ij}$ : P observado del animal i en la semana j; K: P asintótico; b: abscisa del punto de inflexión (edad a la cual el animal alcanza el 50% de K); Xi, semana j. Se estimaron los R<sup>2</sup> como indicadores de la bondad del ajuste de la curva logística. Mediante un análisis de la variancia a dos criterios de clasificación (líneas y grupos) se probó si existían diferencias entre líneas para las estimaciones de b y K. En los animales del grupo desparasitado se encontró una mínima presencia de huevos en los controles de las primeras quincenas que se redujeron a cero con las sucesivas desparasitaciones. La carga parasitaria en el grupo parasitados, expresada como NH mediano y rango por línea fue la siguiente: t 30 (19-296), s 218 (63-428), sp 26 (12-40), h 78 (19-321) y hp 30 (6-82). Los resultados del análisis de la variancia no evidenciaron diferencias significativas entre los grupos parasitados y desparasitados (p>0,05) para K y b, sólo se observaron diferencias entre las líneas para ambas estimaciones (p<0,0001). La presencia de Syphacia obvelata no modificaría el crecimiento de los ratones de estas líneas desde la cuarta semana de vida hasta la semana 14, es decir, desde una semana posterior al destete hasta la madurez para los rangos de huevos encontrados en el estudio. Las diferencias encontradas entre las líneas son atribuibles a la selección divergente de P realizada que modificó el crecimiento de estos animales.

Palabras clave: ratones, peso, Syphacia obvelata

Trabajo presentado en: XX Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2019. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-19**

### LA RESPUESTA DEL HOSPEDERO EN LA FASE AGUDA DE LA INFECCIÓN CON Trichinella spiralis (Ts) CONDICIONA PARCIALMENTE LA RESISTENCIA AL PARÁSITO

Indelman, P.<sup>2</sup>; Codina, A.V.<sup>1,3</sup>; Litta, A.<sup>1</sup>; Marizza, V.<sup>1</sup>; Vasconi, M.D.<sup>1,2</sup>; Hinrichsen, L.I.<sup>1,3</sup>

Instituto de Genética Experimental, Facultad de Cs. Médicas<sup>1</sup>; Área Parasitología, Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas<sup>2</sup>, CIC-UNR<sup>3</sup>. Argentina. paulaindelman@yahoo.com.ar

La dosis infectiva y el genotipo del huésped y del parásito se consideran los principales factores determinantes de la evolución de las infecciones por nematodos intestinales. En experiencias anteriores 4 líneas de ratones de la colonia CBi/IGE se infectaron con dosis crecientes de *Ts*, estimándose el grado de infección alcanzado por cada animal por el número de larvas enquistadas en músculo (CPr). La línea CBi+ fue muy susceptible con alta CPr, CBi/L fue resistente con muy baja CPr mientras que CBi- y CBi mostraron susceptibilidad intermedia. En este trabajo se estudió el efecto de dosis infectivas crecientes sobre la respuesta de los distintos genotipos en la etapa aguda de la infección, determinando la carga parasitaria intestinal y la fecundidad de la hembra de *Ts*, Se utilizaron animales adultos machos (90±10 días de edad) de las líneas CBi+, CBi/L, CBi- y CBi infectados con 1 (dosis I), 2 (dosis II) ó 4 (dosis III) larvas L1/g de peso corporal. Los ratones se sacrificaron a los 3, 6 o 13 días post-infección (pi) (n=6 por línea y fecha de sacrificio), se extirpó el intestino delgado y se contó el número de parásitos adultos (nPA). La fecundidad de las hembras *Ts* se calculó como el número promedio de larvas nacidas por parásito hembra para cada ratón (Fh). Los resultados de nPA se presentan en la tabla:

Efecto de la dosis infectiva y el genotipo del hospedero sobre nPA							
Líne		CBi+	CBi/L	CBi-	CBi		
	3 ds	6 (2-14)# <sup>a</sup>	6 (1-7) <sup>a</sup>	8(4-8) <sup>a</sup>	8 (3-11) <sup>a</sup>		
Dosis I	6 ds	6 (1-12) <sup>a</sup>	5 (0-10) <sup>a</sup>	7 (2-12) <sup>a</sup>	8 (3-11) <sup>a</sup>		
	13 ds	14 (4-16) <sup>a</sup>	0 (0-1) <sup>b</sup>	4 (1-11) <sup>b</sup>	5 (1-10) <sup>b</sup>		
	3 ds	21,5 (17-38) <sup>a</sup>	15 (10-21) <sup>a,b</sup>	6,5 (3-10) <sup>b</sup>	13 (7-18) <sup>a,b</sup>		
Dosis II	6 ds	17,5 (5-48) <sup>a</sup>	15 (7-23) <sup>a</sup>	13,5 (5-18) <sup>a</sup>	20 (10-24) <sup>a</sup>		
	13 ds	8,5 (5-22) <sup>a</sup>	0 (0-1) <sup>b</sup>	8,5 (4-13) <sup>a,b</sup>	17 (6-20) <sup>a</sup>		
Dosis III	3 ds	20,5 (11-78) <sup>a</sup>	36 (19-58) <sup>a</sup>	28,5 (24-34) <sup>a</sup>	26 (14-34) <sup>a</sup>		
	6 ds	46 (31-79) <sup>a</sup>	31 (11-56) <sup>a</sup>	45 (42-52) <sup>a</sup>	37 (21-75) <sup>a</sup>		
	13 ds	4 (0-14) <sup>a,c</sup>	0 (0-0)°	20,5 (8-32) <sup>a,b</sup>	26 (13-36) <sup>b</sup>		

# nPA, mediana (rango).

Para cada fecha dentro de dosis, superíndices distintos indican diferencias significativas entre genotipos (P<0,05)

En el rango de dosis analizado nPA mostró efecto de genotipo a los 13 días pi (P = 0,013), se recuperaron parásitos intestinales en CBi+, CBi- y CBi mientras que la expulsión del gusano fue completa en CBi/L. Se observó rechazo tardío de gusanos adultos con el aumento de la dosis en CBi- y CBi. Fh se midió a los 6 y 13 días pi. A los 6 días pi esta variable no presentó efectos significativos de genotipo o dosis (P > 0,05). Fh aumentó a los 13 ds pi en CBi-, disminuyó en CBi/L y no varió en los otros genotipos (P < 0,05). En general, el incremento de la dosis infectiva no afectó los valores de Fh en el lapso estudiado. Las diferencias en la capacidad de rechazo de los helmintos intestinales muestran que los mecanismos de defensa del hospedero en la fase aguda de la infección son en parte responsables de su resistencia/susceptibilidad. Res C.S. n° 1398/2016.

Palabras clave: T. spiralis, genotipo del hospedero, resistencia/susceptibilidad.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-20**

# CACTERIZACIÓN DE CAMBIOS METABÓLICOS DURANTE UN PROCESO INFECCIOSO AGUDO EN MODELO MURINO

González, F.B.<sup>1,2</sup>; Pacini, M.F.<sup>1</sup>; Villar, S.R.<sup>1,2</sup>; Chapo, G.<sup>2</sup>; Pérez, A.R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER-CONICET) y Facultad de Ciencias Médicas UNR. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPREB), Facultad de Ciencias Médicas, UNR. Argentina.

gonzalezflorenciab@gmail.com

En nuestro laboratorio utilizamos un modelo de infección aguda por *Trypanosoma cruzi* (*Tc*) en ratones C57BL/6 machos que se encuentra bien caracterizado desde el punto de vista inmunológico. Estos ratones, al ser infectados con 1000 tripomastigotes de la cepa Tulahuén por vía intraperitoneal cursan una infección letal con un 100% de mortalidad tras 30 días post-infección (pi). La infección desencadena una respuesta inmune descontrolada con elevados niveles citocinas proinflamatorias como IL-1β, TNF-α e IL-6 y con el desarrollo de una miocarditis severa. Durante un proceso infeccioso el huésped responde con una reacción de defensa generalizada que no sólo involucra la activación de la respuesta inmunológica, sino también con cambios a nivel neuro-endócrino y metabólico, los cuales pueden condicionar el curso de la infección. En este trabajo nos propusimos caracterizar los cambios metabólicos que se producen en nuestro modelo de infección aguda por *Tc*. Con ese fin, se evaluó tras 14, 17 y 21 días pi la ingesta de alimentos y el peso corporal y el del tejido adiposo epididimal (TAE). En plasma se

TABLA 1		Tc (días pi)		
	Со	Día 14	Día 17	Día 21
Parámetros metabólicos				
Peso	31±0,2	30±0,5	26±0,7*	22±0,2*
Ingesta (g/día)	4,0±0,1	3,1±0,1*	N.D.	2,4±0,2*
Glicemia (mg/dl)	130±10	102±8*	69±4*	48±7*
TAE (peso relativo)	0,51±0,04	0,30±0,04*	0,18±0,02*	0,10±0,02*
Triglicéridos (mg/dl)	105±2	N.D.	135±5*	178±12*
Colesterol (mg/dl)	127±3	N.D.	154±3*	168±16*
Leptina (pg/ml)	64±10	20±3*	15±2*	6±0.5*

evaluó, glicemia, triglicéridos y colesterol por métodos enzimáticos, y leptina por ELISA. Como puede observarse en la tabla, todos los parámetros metabólicos estudiados se encontraron alterados durante la infección aguda, en especial se observa una severa hipoglicemia y una pérdida de peso marcada a expensas de la masa del TAE, el cual prácticamente desaparece en los animales infectados. Curiosamente, los animales infectados no presentan dificultades en el manejo de la glucosa ya que su curva de tolerancia a la glucosa es normal (datos no mostrados). El aumento de triglicéridos y colesterol se relacionaría al incremento en la lipólisis del TAE, mientras que, la hipoleptinemia reflejarían la pérdida de este tejido, el cual es su principal productor. Por lo tanto, durante la infección aguda por *Tc*, la inflamación sistémica y la miocarditis se desarrollan en paralelo a profundas alteraciones metabólicas inducidas por la infección y la respuesta inmune asociada.

Palabras clave: infección, metabolismo, T. cruzi

Aprobado por el CICUAL de FCM-UNR (Res. 4977/2013).

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-21**

# ANTITUMORAL EFFICACY AND BIOSAFETY EVALUATION OF METALLATED PORPHYRIN-DOPED CONJUGATED POLYMER NANOPARTICLES FOR APPLICATION IN PHOTODYNAMIC THERAPY AGAINST GLIOBLASTOMA

Caverzán, M.D.<sup>1,3</sup>; Palacios, R.E.<sup>1,4</sup>; Chesta, C.A.<sup>1,4</sup>; Ibarra, L.E.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>IITEMA, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC) y CONICET. <sup>2</sup>INBIAS, UNRC y CONICET. <sup>3</sup>Departamento de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Exactas Fisicoquímicas y Naturales, UNRC. <sup>4</sup>Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas Fisicoquímicas y Naturales, UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

caverzanmatiasmv@gmail.com

Malignant gliomas are more specifically glioblastomas (GBM) are considered as one of the most highly destructive brain diseases and the deadliest of human cancers. First-line treatment options such as surgery, radiation and chemotherapy have not been successful in increasing survival (12-15 months). Nowadays, the clinical application of photodynamic therapy (PDT) for malignant brain tumors has attracted significant attention. PDT combines light, a photosensitizer (PS) and molecular oxygen to generate reactive oxygen species (ROS) that cause damage to neoplastic cells. Some nanoparticles are excellent PSs due to their physicochemical characteristics. Recently, we have developed conjugated polymer nanoparticles (CPNs) using a fluorescent semiconductor polymer poly [(9,9-diocetylfluorenyl-2,7-diyl)-co-(1,4-benzo- {2,1',3}thiadiazole)] (F8BT); combined with PS-PEG polymer, and Pt (II) octaethylporphyrin (Ibarra, et al 2018, Caverzán, et al 2020). A preclinical evaluation related efficacy and safety in animals is mandatory for new potential CPN-based PSs. A human GBM cell line (U87MG) was used for the generation of heterotopic tumors in BALB/c nude (nu/nu) mice (Mus musculus) (CICUAL: 3-09/18 8). The PDT efficacy was evaluated using a dose of 0.4 mg/kg CPNs for intravenous (i.v.) and intratumoral (i.t.) injection followed by blue light irradiation (20 min, 13.3 mW/cm2). Furthermore, we evaluate serum biochemical parameters and histopathological changes in organs after CPN i.v. in healthy BALB/c mice at different times (24hs, 3, 7 and 14 days, n= 5) and compared with a control group (PBS i.v. injection). In tumor kinetics we have observed that tumors exposed to i.t CPNs irradiation and i.v CPNs irradiation reduced tumor size. However, nonirradiated tumors continued to grow faster. Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) were considered biomarkers of liver damage. Besides, serum urea and creatinine values were determined to evaluate kidney damage. Urea values were 58,4±4,6, 53,2±6.1, 75,4±14,8, 57±5,6 and 60±8,3 mg/dl for 24hs, 3d, 7d, 14d and control groups respectively. Only on day 7 there was a slight increase in urea, but it was normalized on day 14. In addition, ALT values were 29±13,3; 33,2±12,7; 35,8±12,8; 25±4,8 and 28±2,9 for 24hs, 3d, 7d, 14d and control groups respectively. The measurements of AST were 185,2±81; 297,6±146; 343±174; 148±26 and 174±31 for 24hs, 3d, 7d, 14d and control groups respectively. These values were no statistically difference comparing with control group for all the parameters. Keywords: glioblastoma, conjugated polymer nanoparticles, photodynamic therapy.

#### **MOE-22**

# EVALUACIÓN DE LA REPRODUCIBILIDAD DEL CRECIMIENTO TUMORAL DE CÉLULAS 4T1 EN RATONES BALB/c PROVISTOS POR DOS BIOTERIOS DIFERENTES

Kaufman, C.<sup>1</sup>; Farré, C.<sup>1</sup>; Bulfoni Balbi, C.<sup>1</sup>; Cocordano, N.<sup>1</sup>; Biscari, L.<sup>1</sup>; Villar, S.<sup>1</sup>; Pérez, A.R.<sup>1</sup>; Alloatti, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER – CONICET/UNR). Argentina. kaufman@idicer-conicet.gob.ar.

Numerosos parámetros conducen a variabilidad experimental en investigaciones que involucran modelos animales. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la reproducibilidad en el crecimiento tumoral de la línea celular 4T1 en ratones BALB/c provistos comercialmente por dos bioterios distintos (P1 y P2). Para ello, ratones hembra adultos BALB/c (rP1 y rP2) fueron desafiados s.c. con células 4T1 (día 0). Los diámetros menor y mayor del tumor fueron medidos con calibre tres veces por semana para calcular el volumen

#### Área Modelos Experimentales | MOE

tumoral y analizar su evolución. Cuando el primer ratón de cada grupo alcanzó el máximo volumen tumoral éticamente permitido, se sacrificaron todos los animales del grupo, se extrajo el tumor y el bazo, y se analizó la presencia de metástasis. Desde el día 9, el volumen tumoral en el grupo rP1 resultó significativamente distinto de cero (p<0.05, One sample test), mientras en el grupo rP2 esto ocurrió sólo desde el día 28 (p<0.05, One sample test). Al día 24, momento del sacrificio del grupo rP1, los volúmenes tumorales difirieron significativamente entre los grupos (p<0.0001, Unpaired t test). El peso tumoral del grupo rP2 fue significativamente mayor al del grupo rP1 (p<0.05, Mann Whitney test), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el volumen tumoral al momento del sacrificio, las AUC o las metástasis pulmonares (ns. Unpaired t test, ns. Unpaired t test y ns. Mann-Whitney test, respectivamente). Asimismo, se apreciaron diferencias entre los grupos respecto al peso relativo del bazo (p<0.05, Unpaired t test), lo cual podría indicar diferencias en la respuesta inmunitaria antitumoral. Estos resultados refuerzan la importancia del control genético de los animales de experimentación y el rol del proveedor para garantizar la validez y reproducibilidad experimental.

Palabras clave: reproducibilidad, 4T1, BALB/c.

Resolución de CICUAL - Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Rosario: Expediente Nº 44487/0090 del año 2018.

#### **MOE-23**

# GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA LÍNEA DE RATONES DEFICIENTE EN LA PRESENTACIÓN CRUZADA DE ANTÍGENOS

Biscari, L.<sup>1</sup>; Cambronera, P.<sup>1</sup>; Maza Moreno, M.C.<sup>2</sup>; Cocordano, N.<sup>1</sup>; Farré, C.<sup>1</sup>; Kaufman, C.<sup>1</sup>; Gironès Pujol, N.<sup>2</sup>; Pérez, A.R.<sup>1</sup>; Amigorena, S.<sup>3</sup>; Alloatti, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario, CONICET-UNR, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad Autónoma de Madrid, Cantoblanco, Madrid, España. <sup>3</sup>Institut Curie, U932, Paris, Francia.

biscari@idicer-conicet.gob.ar

La presentación cruzada (PC) de antígenos posee un papel importante durante la generación de la respuesta inmunitaria frente a tumores e infecciones virales y de otros patógenos. Para poder abordar el estudio de este proceso en forma específica se presenta en este trabajo una línea de ratones transgénicos deficientes en la PC de antígenos. Empleando células madre embrionarias JM8.F6 C57BL/6N se obtuvieron ratones con un exón del gen sec22b flanqueado por sitios loxP (este gen codifica para la proteína SNARE Sec22b que está implicada en el reclutamiento desde el retículo endoplasmático hacia los fagosomas de la maquinaria necesaria para la PC de antígenos). Estos animales fueron cruzados con ratones transgénicos que expresan la recombinasa Cre bajo el promotor de CD11c -un receptor específico de células dendríticas (CDs)- y de esta manera, la progenie generada tras dos cruzamientos permitió obtener ratones con la expresión de la proteína Sec22b silenciada específicamente en CDs, denominados CD11c<sup>cre/+</sup> Sec22b<sup>flox/flox</sup> (Sec22b<sup>-/-</sup>). La caracterización fenotípica de estos ratones por citometría de flujo, en todos los casos usando como control compañeros de camada que expresan Sec22b funcional en CDs (ratones Sec22b $^{+/+}$ ) no revel $\circ$ diferencias significativas en las cantidades relativas y absolutas de las diferentes poblaciones de células inmunitarias (CDs, linfocitos T y B, NK, macrófagos, etc) en diversos tejidos y órganos. Sin embargo, ensayos empleando CDs esplénicas y células dendríticas derivadas de médula ósea (BMDCs) de ratones Sec22b-1-, mostraron que el silenciamiento de Sec22b afecta la PC in vitro, pero no modifica la presentación directa en moléculas MHC de clase I, ni la presentación exógena en MHC de clase II. Además, los ratones deficientes en PC perdieron la capacidad de controlar el crecimiento del tumor EG7-0VA, y mostraron resistencia al tratamiento del tumor MCA101-OVA con anti-PD-1. Asimismo, los ratones Sec22b-/- perdieron la capacidad de controlar una infección subaguda de Trypanosoma cruzi, mostrando una parasitemia elevada y una sobrevida disminuida asociadas a un establecimiento defectuoso de la respuesta citotóxica. En conclusión, los ratones Sec22b<sup>-/-</sup> constituyen un modelo valioso para el estudio de la relevancia de la PC en el establecimiento de respuestas inmunitarias frente a enfermedades infecciosas y cáncer. Todos los ensayos en animales aquí descritos fueron aprobados por el departamento de veterinaria del Instituto Curie, y por el CICUAL de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Rosario (resolución Nº 6157/2018).

Palabras clave: ratones Sec22b<sup>-/-</sup>, presentación cruzada de antígenos, células dendríticas.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-24**

#### **EXPERIMENTAL MODELS OF WOUND HEALING: SURGICAL APPROACHES**

Berengeno, A.<sup>1</sup>; Salinas, F.<sup>1</sup>; Díaz, P.<sup>2</sup>; Rebelindo, E.<sup>1</sup>; García Lázaro, R.<sup>3</sup>; Alonso, D.<sup>3</sup>; Salvetti, N.<sup>1, 2</sup>; Farina, H.<sup>3</sup>; Ortega, H. <sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). Esperanza, Santa Fe, Argentina.<sup>2</sup> Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET). Esperanza, Santa Fe, Argentina.<sup>3</sup> Laboratorio de Oncología Molecular, Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes. CONICET. Buenos Aires, Argentina. andreaberengeno@gmail.com

Normal wound healing is a complex biological process that takes place in all tissues and all organs of the body. Although in vitro models have been important in identifying critical repair mechanisms in specific cell types, in vivo models are necessary to obtain a more comprehensive understanding of human wound healing, under physiological and pathological conditions. A wide variety of models have been developed for examining different aspects of the repair response thus many animal models are used for the evaluation of wound healing activities. However, some discrepancies exist with the wound and types of wound models that can be used along with the topics like wound location, wound size as well as anesthetics and analgesics and analytical measures that are used in wound healing studies. The aim of this study was to develop two experimental models for wound healing evaluation in rabbit and rat using different surgical approaches. All procedures were approved by the Institutional Ethics and Security Committee of Faculty of Veterinary Sciences, Universidad Nacional del Litoral, Argentina (336/16- rabbits and 513/19- rats). Forty-two New Zealand rabbits (2000-2500 g) of both sexes were anesthetized and standardized ventral midline laparotomies and uniform-length gastrotomies were performed. A 30 mm long incision was made in the anterior gastric wall parallel to the greater curvature. Stomach wounds were immediately closed with absorbable sutures. Gastrotomy wounds were assessed for wound healing through Power Doppler ultrasonography at 1st, 3rd, 7th, 15th days after surgery. The excisional full thickness skin wound model with splinting was employed for wound healing activity in thirty-four healthy adult male Wistar/Cmedc rats (300-350 g). A full skin thickness excisional wound of 5 mm diameter was made on the dorsal area of each anesthetized animal. Silicone rings were used as splints to hold the wound margins in place. Digital images of the wounds were taken at 0th, 1st, 4rd, 7th, 10th, 13th, 16th, 19th, 22nd and 25th days after wound creation. Images from rabbit and rat models were analyzed by Image-ProPlus 6.0 software to obtain quantitative data. The quantification of Power Doppler images in rabbit gastrotomy model show that the highest signal of blood flow velocity was obtained at 24 h after surgery and then decreased on day 3 maintaining practically the same values until day 15 post wounding. Healing pattern in rat excisional full thickness skin wound model was observed from the 1st day. The wound closure percentage was 20 %, 60 % and 80 % on day 4, 7 and 16 post wounding respectively. A complete wound closure was observed after 25 days of wound creation. Significant differences (p < 0.001) were obtained for all times analyzed except for 7th, 10th, 13th days after wounding. The results of this study demonstrated that these experimental animal models can be fundamental tools for the development of new treatments to wound therapy for translational applications. Keywords: wound healing, surgery, in vivo models.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-25**

# IN VIVO STUDIES OF THE EFFECT OF ALPHA-SYNUCLEIN INCORPORATION ON MELANOMA DEVELOPMENT

Malizia, F.<sup>1,2\*</sup>; Zanotti, L.<sup>1,2\*</sup>; Chapo, G.<sup>3</sup>; Menacho Márquez, M.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER, UNR-CONICET). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB, Facultad de Ciencias Médicas-UNR). Universidad Nacional de Rosario (UNR). Argentina.

\*Contributed equally to this work malizia@idicer-conicet.gob.ar

Synucleins are a group of neuronal proteins involved in neurodegeneration and cancer. Alpha-synuclein (αS) is the main component of Lewy bodies, the neuropathological hallmark of Parkinson's disease (PD). The mechanisms underlying aggregation, neurotoxicity, and cell-to-cell transmission of aS were explored in depth in this context. Recent evidence suggests that aS plays a role in the pathogenesis of melanoma, the most dangerous form of skin cancer, and a protective role was assigned to this protein in advanced melanoma. However, its role in this type of cancer has not yet been fully explored. Previous results of our group carried out in vitro with melanoma cells showed that they are able to incorporate different aggregation species of aS. These species, not only are non-toxic, but promoted instead proliferation, migration and clonogenic capacity of melanoma cells. In this work, we evaluated in in vivo models the effect of the incorporation of aS fibers on melanoma progression (CICUAL "Characterization of the role of synucleins in different cell types: exploring the relationship between cancer and neurodegenerative diseases"). To explore the impact of αS incorporation on melanoma development, B16-F10 cells (control and previously incubated with aS fibers) were injected subcutaneously below their minimal tumorigenic dose in the right flank in 8week-old female C57BL/6 mice. (7x10<sup>4</sup> cells; n = 5/group). Using this approach, we observed that animals injected with pre-treated cells developed tumors within 4 weeks post-inoculation, while no tumor development was observed in control animals at this time. To confirm the role of αS in melanoma growth, 2x10<sup>5</sup> cells (n = 6/group) were injected as described before. Tumor volume was periodically measured with a caliper during 3 weeks. Growth kinetics indicated that αS treatment significantly promoted tumor growth (P < 0.05). To analyse the generation of spontaneous lung metastases, cells were injected under identical conditions. When tumor volume reached 250mm3, mice were anesthetized with a mixture of ketamine/midazolam to surgically remove it. Follow-up of the mice indicated no relapse. After 4 weeks, mice were sacrificed by CO<sub>2</sub> overexposure and lungs and lymph nodes were collected for histological analysis, observing the development of metastases. Further analysis should be done to evaluate the role of aS on the development of these metastases. Taken together, our data indicate that  $\alpha S$  fibers promote tumor potential and melanoma cell growth, suggesting a role for  $\alpha S$  transmission in melanoma progression.

Keywords: alpha-synuclein, melanoma development, alpha-synuclein transmission This work was presented in "ExpoBioterios Virtual 2020". 16 y 17 de Octubre de 2020.

#### **MOE-26**

# MODELOS IN VIVO PARA LA EVALUACIÓN DE TERAPIAS CON DROGAS EN REPOSICIONAMIENTO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER COLORRECTAL

Anselmino, L.<sup>1,2\*</sup>; Baglioni, M.V.<sup>2,3</sup>; Chapo, G.<sup>4</sup>; Menacho Márquez, M.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER, UNR CONICET). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Instituto de Genética Experimental (FCM-UNR). <sup>4</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB, FCM-UNR). Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

anselmino@idicer-conicet.gob.ar

El cáncer colorrectal (CCR) suele diagnosticarse en estadios avanzados, cuando la probabilidad de recurrencia tumoral por desarrollo de resistencia a la quimioterapia (habitualmente basada en 5-fluorouracilo; 5-FU) es mayor. El reposicionamiento de fármacos se refiere a nuevos usos para

#### Área Modelos Experimentales | MOE

medicamentos, diferentes para los que fueron diseñados, acelerando el tiempo que tarda una terapia en alcanzar la clínica. Metformina (Met) es un antidiabético, propranolol (Prop) un antihipertensivo; de ambos existe evidencia de efecto antitumoral. En este trabajo, evaluamos el impacto de la administración de Met+Prop en modelos murinos de CCR sensibles y resistentes a 5-FU (aprobación CICUAL y Comité de Bioética Facultad de Ciencias Médicas, UNR). Para evaluar el efecto de Met+Prop sobre el crecimiento tumoral, 2x10<sup>6</sup> células HCT116 (CCR humano) o 5x10<sup>5</sup> células CT26 (CCR murino) disueltas en PBS fueron inoculadas subcutáneamente en el flanco derecho de ratones hembra de 8 semanas de edad inmunodeficientes o BALB/c respectivamente, provenientes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata. Los animales fueron alimentados con dieta comercial, agua ad libitum y mantenidos en ciclos de luz/oscuridad de 12h en las instalaciones del CIPReB (Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos de Rosario). Para determinar la eficiencia del tratamiento con Met+Prop sobre CCR resistente a 5- FU, generamos células resistentes por sobre-exposición a la droga (HCT116<sup>5FUR</sup>). 2x10<sup>6</sup> células HCT116<sup>5FUR</sup> se inocularon del modo descrito sobre hembras inmunodeficientes. En todos los casos, cuando los tumores fueron palpables, los ratones se dividieron al azar en 2 grupos experimentales (N=5-8/grupo): control (sin tratamiento) y Met+Prop (400mg/kg/día + 7mg/kg/día). Los tratamientos fueron administrados en el agua de bebida, renovándose 2 veces por semana. Se controló periódicamente el peso corporal y el crecimiento tumoral midiendo los diámetros tumorales con un calibre. Cuando los tumores alcanzaron el máximo tamaño éticamente permitido, los animales se sacrificaron por sobreexposición a CO2. Se les extrajo tumor, bazo y pulmones para análisis histológicos. Los resultados indicaron que los animales tratados mostraron una cinética de crecimiento tumoral menor que el grupo control (P<0,05), ninguna evidencia de esplenomegalia y un número reducido de metástasis pulmonares (P<0,05), sin signos de toxicidad. Nuestros datos demuestran que el tratamiento con Met+Prop disminuye el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis tanto en CCR como en CCR 5-FU resistente, por lo que podría resultar útil para el tratamiento de tumores resistentes a terapias convencionales evitando la toxicidad y los altos costos asociados a las mismas.

Palabras clave: cáncer colorrectal, metformina, propranolol.

Este trabajo fue presentado en "ExpoBioterios Virtual 2020". 16-17 de Octubre de 2020.

#### **MOE-27**

# COMBINED THERAPY WITH CHLOROQUINE AND PROPRANOLOL FOR COLORECTAL AND TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCERS TREATMENT

Anselmino, L.<sup>1,2\*</sup>; Baglioni, M.V.<sup>2,3\*</sup>; Reynoso, G.<sup>3</sup>; Scharovsky, G.O.<sup>2,3</sup>; Rozados, V.R.<sup>2,3</sup>; Rico, M.J.<sup>2,3</sup>; Menacho Márquez, M.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER, UNR CONICET). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Instituto de Genética Experimental (FCM-UNR). <sup>4</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB, FCM-UNR). Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

\* these authors contribute equally to this work anselmino@idicer-conicet.gob.ar

Drug repositioning refers to new uses for existing drugs outside the scope of their original medical indications. This approach fastens the process of drug development allowing finding effective drugs with reduced side effects and lower costs. Colorectal cancer (CRC) is often diagnosed at advanced stages, when the probability of chemotherapy resistance is higher. Triple negative breast cancer (TNBC) is the most aggressive type of breast cancer, highly metastatic and difficult to treat. For both tumor types, available treatments are generally associated to severe side effects. In our work, we explored the effect of combining chloroquine (CQ) and propranolol (Prop), two repositioned drugs, in both tumor types. We demonstrate by *in vitro* experiments that CQ+Prop treatment affects viability, apoptosis and migratory potential of CRC and TNBC cells. To corroborate our data in *in vivo* models, CRC and TNBC cells were subcutaneously injected into the right flank of 8-week-old female mice (BALB/c or immunodeficient mice according to the cell type; CICUAL authorization for the project "Nuevos enfoques terapéuticos para el tratamiento del cáncer", Facultad de Ciencias Médicas, UNR). Animals were fed with commercial diet, water *ad libitum*, and kept in 12h light/dark cycles at the CIPReB facilities. Tumor volume was periodically measured with a caliper. When tumors reached 80 mm³ animals were arbitrarily separated and treated by adding CQ and/or Prop to the

#### Área Modelos Experimentales | MOE

drinking water (65 and 7mg/kg/day respectively, N=4-6/group). Body weight and tumor growth were periodically monitored. When tumors reached the maximum size ethically allowed, animals were sacrificed by overexposure to  $CO_2$ . Tumor, spleen and lungs were removed for histological analysis. The results indicated that CQ+Prop treated animals carrying CRC showed lower tumor growth kinetics than the control group (P <0.05), no evidence of splenomegaly and a reduced number of lung metastases (P <0.05), without signs of toxicity. CQ+Prop combination was only partially effective in one of the TNBC *in vivo* models under study. Our data sugest that combination of CQ+Prop could be an effective alternative for CRC treatment. Keywords: colorectal cancer, chloroquine, propranolol.

#### **MOE-28**

# EL SINDROME METABOLICO MATERNO INDUCIDO POR CONSUMO PROLONGADO DE FRUCTOSA AFECTA EL NEURODESARROLLO DE LA PROGENIE

Prado Spalm, F.H.<sup>1</sup>; Cuervo Sánchez, M.L.<sup>1</sup>; Furland, N.E.<sup>1</sup>; Vallés, A.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INIBIBB, CONICET-UNS, Laboratorio de Nutrición y Neurodesarrollo, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

fpradospalm@inibibb-conicet.gob.ar

En las últimas décadas se ha incrementado el consumo de alimentos ricos en azúcares simples. Entre estos alimentos, que se destacan por su bajo costo, gran palatabilidad y bajo valor nutricional, están las bebidas azucaradas y productos ultraprocesados con alto contenido de jarabe de maíz de alta fructosa. El consumo elevado y crónico de este carbohidrato lipogénico deriva en Síndrome Metabólico (SMet), una condición metabólica caracterizada por lipotoxicidad, resistencia a insulina, hiperuricemia y estrés oxidativo. En vista de esta problemática a nivel de salud pública, planteamos como objetivo investigar el efecto de un consumo prolongado de fructosa en ratas hembras Wistar adultas (60 días) sobre su progenie, con especial interés en el neurodesarrollo (CICUAE, protocolo 139/2018 Universidad Nacional del Sur). Las hembras adultas recibieron una dieta comercial estándar ad libitum y aqua de bebida (grupo control), o aqua de bebida con 20% (p/v) de fructosa (grupo experimental), durante 10 semanas. Se utilizaron marcadores séricos y medidas antropométricas para confirmar la presencia de SMet en las hembras adultas. Las hembras con SMet se aparearon con machos Wistar que recibieron dieta normal. En los neonatos (P3-21) se evaluó la adquisición y maduración de reflejos sensoriomotores. El consumo prolongado de fructosa no produjo un incremento significativo del peso corporal, pero sí una clara tendencia a la acumulación de grasa visceral. En cuanto a los parámetros séricos evaluados, hubo marcados aumentos en los niveles de glucemia, trigliceridemia, colesterolemia y uricemia, confirmando la presencia de SMet en las hembras del grupo experimental. Durante la gestación, disminuyó significativamente (50%) la ingesta de alimento, de manera que cerca del 80% de las calorías consumidas provinieron de la fructosa del aqua de bebida con una notable reducción en el aporte de proteínas, fibras y minerales. Además, el tratamiento indujo la disminución de la fertilidad, la cual fue cuantificada como el número de apareamientos necesarios para conseguir una gestación exitosa, en comparación con el grupo control. No se observaron diferencias en el peso ni en la talla de la progenie respecto del grupo control durante el período evaluado (P1-21). En contraparte, la capacidad de adquisición de reflejos fue significativamente afectada en las crías de madres que consumieron fructosa, presentando una mayor latencia en la adquisición de reflejo de enderezamiento, agarre trasero, sobresalto auditivo y apertura de ojos y canal auditivo en las crías hembras, mientras que en la progenie masculina se vio retrasada la apertura de los ojos y del canal auditivo, como también el reflejo de enderezamiento en caída. La resistencia muscular fue menor en las crías de ambos sexos del grupo experimental en comparación con el grupo control. Los resultados de este trabajo evidencian no sólo la incidencia negativa que las dietas con alto contenido de carbohidratos simples tienen sobre el metabolismo de guienes las consumen sino también sobre el neurodesarrollo de su descendencia. Palabras clave: síndrome metabólico; fructosa; neurodesarrollo.

Área Modelos Experimentales | MOE

#### **MOE-29**

# MONITOREO GENÉTICO DE CEPAS CONSANGUÍNEAS DE RATAS: ADAPTACIÓN DE LA TÉCNICA SSLP CON REACTIVOS LOCALES

Torales, F.¹; Tau, R.¹; Ferreccio, C.¹; Bachir, N.¹; Romera, S.¹,²,³; Maidana, S.¹,²
¹IVIT (INTA – CONICET), N. Castelar, Buenos Aires, Argentina. ²Cátedra de Inmunología, Universidad del Salvador, Pilar, Provincia de Buenos Aires, Argentina. ³Cátedra de Inmunogenética, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad de Morón, Morón, Buenos Aires, Argentina.

torales.fatima@inta.gob.ar

Las líneas consanguíneas de ratones y ratas fueron creadas y seleccionadas por el hombre para ser utilizadas en experimentos científicos ya que permiten eliminar la variabilidad genética de los ensayos. Aunque las cepas de ratones y ratas se consideran genéticamente estables, las mismas pueden variar a causa de contaminaciones por cruzamiento accidentales con otra cepa y/o por la acumulación progresiva de mutaciones espontáneas. La técnica mayormente utilizada por ser económica y fácil de realizar es SSLP, esta consiste en la amplificación de secuencias cortas repetidas por medio de PCR. La utilización de animales con genética homogénea permite reducir la cantidad de animales de los experimentos, cumpliendo así con el principio de reducción de las 3R, disminuyendo los costos del ensayo por reducción del número de repeticiones realizadas. Actualmente nuestro laboratorio ofrece el servicio de control genético para cepas consanguíneas de ratones de experimentación sin embargo aún no estaba disponible el servicio de control genético para cepas consanguíneas de ratas por lo cual objetivo de este trabajo fue la adaptación (condiciones locales) de la técnica de SSLP recomendadas internacionalmente para determinar la condición genética de las cepas consanguíneas de ratas de experimentación. Se seleccionaron 26 microsatélites para discriminar la cepa de ratas Brown Norway (BN) y la cepa SD/RiJ. Las secuencias de los oligonucleótidos que permiten amplificar dichos microsatelites se encuentran disponibles en la página Rat Genome Data base https://rgd.mcw.edu/. Las reacciones de PCR fueron realizadas según el protocolo sugerido por el fabricante de los reactivos locales, así como también las condiciones de ciclado. La electroforesis en gel de agarosa fue adaptada a las condiciones de nuestro laboratorio y los productos disponibles en nuestro país. Para la estandarización de la técnica se utilizó el ADN de cepas de ratas BN y SD/RiJ cedidas gentilmente por el Dr Benavides. La validación de la técnica se llevó a cabo por 2 operarios distintos, utilizando 2 termocicladores diferentes para evaluar la robustez de la misma. Se lograron amplificar exitosamente los 26 SSLP seleccionados, obteniéndose el patrón de bandas esperado para los controles utilizados. La técnica realizada con ADN de las cepas BN y SD/RiJ mostró ser robusta obteniéndose resultados idénticos por operarios diferentes y en equipos diferentes. Estos 26 microsatelites se encuentran distribuidos a lo largo de los 18 cromosomas autosómicos de la rata. Se logró adaptar la técnica de detección de SSLP para caracterizar las cepas de ratas endocriadas, nuestro próximo objetivo es incorporar a nuestro panel de microsatélite, aquellos que nos permitan diferenciar cepas de ratas más utilizadas en nuestro país.

Palabras clave: control genético, ratas, endocría.

#### **MOE-30**

# BIENESTAR ANIMAL DE RATONES BALB/C PORTADORES DE FIBROSARCOMAS EN PRESENCIA DE ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL Montagna, D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Oncología Experimental, IMEX CONICET, Academia Nacional de Medicina. Argentina.

daniela.r.montagna@gmail.com

El Bienestar Animal (BA) es el estado en el que se encuentra un animal que trata de adaptarse a su ambiente. El extendido uso del ratón como modelo preclínico en investigación requiere establecer pautas de refinamiento y conocer las necesidades específicas de la especie. El objetivo del trabajo fue evaluar el bienestar animal de ratones portadores de tumores en presencia de elementos de enriquecimiento

#### Área Modelos Experimentales | MOE

ambiental. Se utilizó como modelo tumoral un fibrosarcoma murino inducido por metilcolantreno (MC-C), inoculado vía s.c. en el flanco derecho de ratones BALB/c hembras de 2 meses de edad. Se alojaron 2 o 3 animales por microaislador y se agregaron, según el grupo, un tubo de pvc (túnel), viruta de madera rizada (nidos) o ambos elementos y un grupo control sin enriquecimiento ambiental. Luego de alcanzar un volumen tumoral de 300-500 mm<sup>3</sup> (8 a 10 días post-inoculación), se registró diariamente en forma escrita, fotográfica y grabada el examen clínico y las conductas de los animales en dos horarios: 10 am y 18 pm, durante una semana, sin manipulación por parte del observador. El mantenimiento de este modelo tumoral se realizó bajo la aprobación del protocolo 005/15 del CICUAL del IMEX-CONICET, Academia Nacional de Medicina, y del CICUAL de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Se alimentaron con pellets y agua ad libitum. Los resultados mostraron que, en presencia de uno o más objetos de enriquecimiento ambiental, los comportamientos nocturnos fueron diversos e incluyeron: conductas de interacción con infrecuentes signos de agresividad; ausencia de conductas estereotipadas y de heridas; conductas de trepa, acicalamiento, exploración y paso a través del túnel (muy frecuentes), construcción y modificación del nido y deambulación por todos los espacios de la caja. Estos comportamientos no se vieron modificados al acercarse el punto final temprano definido para este modelo por la aparición incipiente de necrosis de la piel circundante al tumor. Sin embargo, estos comportamientos disminuyeron en cantidad y variedad en ausencia de los medios de enriquecimiento ambiental. Por otra parte, en horario diurno, se observó que las conductas anteriormente mencionadas fueron infrecuentes y prevaleció el período de reposo en el nido. Los animales no mostraron modificaciones conductuales, de score corporal, hidratación, color de mucosas y estado del pelaje, comparado con ratones sin tumores durante el período de observación. Los resultados obtenidos sugieren que el enriquecimiento ambiental podría ser un factor más determinante del bienestar animal, entendido desde un enfoque integral, que un signo clínico estadificado en forma aislada, como la necrosis superficial incipiente. En conclusión, sería apropiado la estandarización de indicadores comportamentales para evaluar el BA y su relación con la progresión de la enfermedad oncológica en ratones portadores de tumores, así como también una redefinición del punto final temprano teniendo en cuenta no sólo las características del tumor en sí mismo sino la capacidad del animal de realizar comportamientos específicos de especie en circunstancias de enfermedad.

#### Palabras clave: modelo tumoral, enriquecimiento ambiental, ratón.

#### **MOE-31**

# EFICACIA DE LOS INHIBIDORES DE LA ESTEROL 14-DEMETILASA EN MODELOS ANIMALES DE INFECCIÓN CON *Trypanosoma cruz*i: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

#### Jurado Medina, L.<sup>1</sup>; Bisio, M.<sup>2</sup>; García-Bournissen, F.<sup>3</sup>; Gulin, E.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Multidisciplinario de Investigaciones en Patologías Pediátricas (IMIPP), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) - Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires (GCBA). Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Parasitología (INP) 'Dr. Mario Fatala Chaben'-ANLIS 'Dr. Carlos G. Malbrán', Buenos Aires, Argentina. CONICET. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Division of Paediatric Clinical Pharmacology, Department of Paediatrics, Schulich School of Medicine & Dentistry, University of Western Ontario. London, Ontario, Canadá. Instituto de Investigaciones Biomédicas (INBIOMED), Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Medicina – CONICET. Buenos Aires, Argentina.

jgulin@fvet.uba.ar

El desarrollo de nuevas drogas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas es escaso. El reposicionamiento de fármacos es una alternativa rápida y de bajo costo para identificar compuestos en uso clínico con actividad anti-*Trypanosoma cruzi*. Desarrollados para el tratamiento de micosis profundas, los inhibidores de la esterol 14-demetilasa (CYP50) emergieron como alternativas terapéuticas. Luego de resultados alentadores en modelos *in vitro* e *in vivo*, los azoles posaconazol y E1224 fueron evaluados en ensayos clínicos. Sin embargo, los pacientes tratados con azoles presentaron mayores fallas terapéuticas comparados con aquellos que recibieron el tratamiento convencional con benznidazol. El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión sistemática (RS) de la eficacia de los inhibidores de CYP50 en modelos animales de infección con *T. cruzi*. El protocolo fue registrado en la base PROSPERO (#205000). Se realizó

#### Área Modelos Experimentales | MOE

una búsqueda bibliográfica en PubMed y Embase empleando filtros validados para identificar artículos originales sin restricción de idioma ni fecha de publicación que evalúen la eficacia de los inhibidores de CYP50 en modelos in vivo de infección experimental con T. cruzi. De los artículos seleccionados se extrajeron datos de la especie animal, de la cepa de T. cruzi, del modelo de infección utilizado, de las variables experimentales y los criterio(s) de cura. Se incluyeron cincuenta artículos, los cuales describen 126 modelos animales (105 en fase aguda, 5 en fase aguda tardía y 16 en fase crónica), empleando ratón (Mus musculus) (n=121) y perro (Canis familiaris) (n=5). Las cepas parasitarias más utilizadas fueron Y (n=53), Colombiana (n=18) y CL (n=15), inoculadas por vía intraperitoneal (91%), con cargas parasitarias de entre 3x10 y 1x10<sup>6</sup>. De los 67 inhibidores de la CYP50 evaluados, los más estudiados fueron posaconazol (n=16) y ketoconazol (n=10). Las variables para determinar eficacia fueron principalmente parasitemia, mortalidad e histopatología y como criterios de cura, qPCR en sangre y/o tejidos y reactivación de parasitemia post-inmunosupresión. Los modelos animales de infección con T. cruzi disponibles presentan heterogeneidad en las condiciones experimentales y en los criterios de cura, dificultando la comparación entre ensayos. Esta RS sienta el precedente para continuar con la evaluación de riesgo de sesgo y la realización de meta-análisis para determinar la eficacia global de los inhibidores de la CYP50 en modelos de infección con T. cruzi, contribuyendo así a la reducción del uso de animales de experimentación, y mejorando a su vez, la predictibilidad de los modelos in vivo y su transferencia a ensayos clínicos. Palabras clave: Trypanosoma cruzi, revisión sistemática, modelos animales.

#### **MOE-32**

# MODELOS MURINOS DE DESNUTRICIÓN Y OBESIDAD: COMPARACIÓN DE PARÁMETROS BIOMÉTRICOS

Corimayo, M.<sup>1</sup>; Pereyra, R.<sup>1</sup>; Mora, M.C.<sup>1</sup>; Ramos, F.<sup>1</sup>; Micheloud, J.F.<sup>2</sup>; Burgos, V.<sup>3</sup>; Davies, C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patología Experimental-CONICET-Facultad de Cs. de la Salud, Universidad Nacional de Salta (UNSa). <sup>2</sup>Estación Experimental Salta-INTA. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas-Facultad de Cs. de la Salud, UNSa. Argentina. corimayo.macarena@gmail.com

La desnutrición afecta a gran parte de la población indígena originaria en zonas poco urbanizadas de Argentina, y la obesidad es una de las principales causas de mortalidad en zonas industrializadas a nivel mundial. Como otras enfermedades, también pueden estudiarse con modelos murinos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue realizar modificaciones en la dieta para obtener un modelo murino de desnutrición y otro de obesidad, y caracterizarlos con parámetros biométricos. Se emplearon 36 ratones Swiss, machos y hembras, de 1 mes de edad, divididos en tres grupos de 12 animales (6 hembras y 6 machos). Cada grupo recibió dietas distintas durante 1 mes. El grupo 1 (nutrición normal) recibió alimento estándar (pellets de fabricación comercial) ad libitum diariamente. El grupo 2 (desnutridos); recibió alimento estándar ad libitum cada 2 días: el 1° día no recibieron alimento, y el 2° día recibieron alimento estándar con un placebo de 1,5% agar-agar sólido (30 g/ratón de cada componente). El 3° día recibieron alimento normalmente y luego recomenzó el ciclo. Los fines de semana recibieron alimento ad libitum, sin restringir el agua de bebida en ningún momento. El grupo 3 (obesos) recibió alimento estándar ad libitum todos los días, con glutamato monosódico (GMS) al 1% en el agua de bebida, además de un preparado de queso crema con GMS para lograr una ingesta de 3 g/Kg/día de esta sustancia. Se realizaron mediciones de peso (g) y talla (cm) antes de comenzar los tratamientos, y una vez por semana hasta el momento de finalizar el experimento. Se determinó: longitud del cuerpo del hocico al comienzo del rabo; circunferencia torácica y circunferencia abdominal. Con estos datos se calculó el índice de masa corporal (IMC=peso corporal/longitud²) y el de Lee (IL=raíz cúbica del peso corporal/longitud), ambos empleados como predictores de obesidad (CICUAL-FCN-UNSa, exp. N° 12766/19). Los datos se analizaron por ANOVA de dos vías (GrapPad Prism 5.0). Los resultados mostraron que al finalizar los tratamientos hubo diferencias significativas entre machos y hembras en la respuesta frente a las dietas, observadas en todas las medidas biométricas. Entre los machos no se observaron diferencias en el peso, IL ni IMC frente a ninguna de las dietas, pero sí entre los obesos y desnutridos en las medidas de circunferencia abdominal, torácica y longitud hocico-rabo. En las hembras hubo diferencias en todas las medidas e índices determinados, excepto en la circunferencia de tórax. IL e IMC mostraron diferencias entre hembras normales vs. desnutridas, mientras que la longitud y la

#### Área Modelos Experimentales | MOE

circunferencia abdominal fueron diferentes entre obesas vs. normales y desnutridas. El peso varió significativamente entre desnutridas vs. normales y obesas. En conclusión, las dietas planteadas en el presente trabajo pueden ser de utilidad para obtener modelos murinos de desnutrición y obesidad. Palabras clave: obesidad, desnutrición, modelos murinos.

#### **MOE-33**

# MODELO ANIMAL DE LIGADURA PARCIAL DEL NERVIO CIÁTICO EN LA EVALUACIÓN DEL DOLOR NEUROPÁTICO PARA ESTUDIOS DE ANALGESIA

Perez, V.<sup>1,2</sup>; Canero, E.<sup>1,2</sup>; Balerio, G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica: Cátedra de Farmacología. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Investigaciones Farmacológicas (ININFA). Buenos Aires, Argentina. gnbalerio@gmail.com

El modelo de ligadura parcial del nervio ciático (LPNC) constituye una herramienta de suma importancia para el estudio y desarrollo de tratamientos analgésicos vinculados al dolor neuropático en animales de laboratorio. A través de este modelo, se induce en los ratones un estado similar a las neuropatías humanas caracterizadas por dolor espontáneo, alodinia e hiperalgesia. Con el objetivo de reproducir este modelo, hemos llevado adelante su puesta a punto en cada una de sus etapas utilizando ratones prepúberes de ambos sexos de la cepa Balb/C de17-20 g de peso al inicio del experimento. Los animales fueron alojados en una sala a temperatura (21 ± 1 °C) y humedad (55 ± 10%) controlada con un ciclo de luz-oscuridad de 12 hs (luz entre 08:00 y 20:00 horas) con comida y aqua ad-libitum. Además, todos los procedimientos experimentales se llevaron a cabo con la aprobación del CICUAL (Nº de resolución 3037) expedido por la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB), UBA. En primer lugar, los ratones fueron anestesiados con isoflurano y luego se realizó la LPNC de la pata derecha (grupo con ligadura o LPCN), mientras que los animales control (grupo sin ligadura o Sham) fueron sometidos a una cirugía simulada de la pata derecha. En cambio, la pata izquierda se mantuvo intacta en todos los grupos. Para evaluar la hiperalgesia se utilizó el test de Von Frey con el cual se calcula el umbral nociceptivo en gramos a través de la presión ejercida con los filamentos sobre la superficie plantar de las patas traseras. Finalmente, con los valores obtenidos se calculó la media ± E.E. en cada pata y grupo experimental para luego analizar con ANOVA de 3 factores y test pos-hoc Tukey, utilizando un p<0.05 como estadísticamente significativo. Los resultados preliminares evidenciaron una disminución significativa del umbral nociceptivo de la pata derecha en los ratones del grupo LPCN desde un valor basal de 0,61 ± 0,10 g a un valor post operatorio de 0,16 ± 0,24 g en ratones con LPCN (p< 0,001). En cambio, la operación simulada no produjo una diferencia significativa en el umbral nociceptivo de la pata derecha en ratones del grupo Sham (p=0,989). Consideramos que el empleo de modelos animales tiene un papel fundamental en la investigación preclínica y este modelo de LPNC es una herramienta útil para estudiar los mecanismos neurobiológicos y el desarrollo de potenciales tratamientos analgésicos vinculados al dolor neuropático en la clínica médica.

#### Palabras clave: dolor neuropático, analgesia, ratones.

#### **MOE-34**

### CARCINOGÉNESIS EXPERIMENTAL EN MUCOSA LINGUAL DE RATONES: COMPARACIÓN CON EL MODELO ORIGINAL Y RELACIÓN CON ÁCIDOS GRASOS DIETARIOS

#### Combina Herrera, C.N.<sup>1</sup>; Cremonezzi, D.<sup>2</sup>; Pasqualini, M.E.<sup>3</sup>; Actis, A.B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cátedra B de Anatomía - Facultad de Odontología – Univ. Nac de Córdoba (UNC). <sup>2</sup>Cátedra de Biología Celular, Histología y Embriología – FCM– UNC. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA) – CONICET – UNC. Argentina. cesar.combina@unc.edu.ar

Existen diversos modelos experimentales para el estudio del carcinoma bucal de células escamosas (CBCE). En el modelo inducido con 4-nitroquinolina-óxido (4NQO) el carcinoma invasor se alcanza a las 40

#### Área Modelos Experimentales | MOE

semanas y muestra similitudes con el CBCE en humanos. Los ácidos grasos (AG) n-3, en general, poseen propiedades antineoplásicas. Con el objetivo de comparar, con el original, un modelo experimental replicado de CBCE y analizar la influencia de ácidos grasos dietarios en el proceso de carcinogénesis, se asignaron 36 ratones machos *BALB/c* a dos grupos dietarios: chía (GCh; n=18) y control (GC; n=18). Los animales de cada grupo se alimentaron con una dieta semiblanda con aceite de soja (rico en AG n-6) y de chía (rico en AG n-3) (6%), respectivamente, como fuente lipídica. Se indujeron los tumores mediante aplicación tópica de 4NQO en el dorso lingual, 3 veces por semana, durante 16 semanas (S). Se sacrificaron 6 animales de cada grupo a las 32, 40 y 50 S. Se fijaron y procesaron muestras de mucosa lingual para analizar cambios histopatológicos (HE/microscopía óptica). El protocolo fue aprobado por CICUAL, Fac. de Cs. Médicas, UNC. N° 61/2018). A las 32 S se observó CBCE (16,6%), hiperplasia basal (50%) y displasia leve (16,6%) en GC; en GCh no se detectó CBCE (0%), sólo hiperplasia basal (60%) y tejido normal (40%). A las 40 S se encontró CBCE (16,6%) e hiperplasia basal (33%) en GC; en GCh no se observó CBCE (0%), sólo hiperplasia basal (50%) y displasia leve (16,6%). A las 50 S se halló CBCE en el 100% y 16.6% de animales de GC y GCh, respectivamente. Los cambios histopatológicos descritos ocurrieron de manera tardía en comparación con el modelo original, con un evidente efecto protector de los AG n-3.

Palabras clave: cáncer bucal, carcinogénesis experimental, ácidos grasos dietarios.

#### **MOE-35**

# EVALUACION DEL PAPEL DEL DIMORFISMO SEXUAL MURINO EN LA RESPUESTA A VACUNAS CONTRA T. CRUZI

Bulfoni Balbi, C.¹; Pacini, M.F.¹; Dinatale, B.¹; González, F.¹; Villar, S.¹;²; Prochetto, E.³; Farré, C.¹;²; Chapo, G.²; Marcipar, I.³; Cabrera, G.³; Pérez, A.R.¹;²¹ Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario (IDICER CONICET UNR). ² Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB) Facultad de Cs. Médicas, Universidad Nacional de Rosario. ³ Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Argentina. bulfonibalbi@idicer-conicet.gob.ar

Existen diversos parámetros como la edad, el estado nutricional, la diversidad genética, las enfermedades preexistentes y el sexo, que pueden afectar la eficacia de las vacunas. Sin embargo, en la mayoría de los estudios de inmunización y protección vacunal llevada a cabo en animales de laboratorio se tiende a evaluar un solo sexo, asumiendo que los resultados se aplican al sexo opuesto. Existen evidencias que indicarían que, en hembras, los estrógenos están asociados con una mejor respuesta de anticuerpos tras el proceso vacunal. Dado que el desarrollo preclínico de vacunas contra T. cruzi se ha centrado en la evaluación de la respuesta humoral, la mayor parte de los estudios se han realizado en ratones hembra. En este contexto, nuestro objetivo es evaluar la influencia del sexo en la respuesta humoral y en el grado de protección que se genera tras la administración de distintas vacunas experimentales contra T. cruzi en ratones BALB/c machos (M) y hembras (F). El esquema de inmunización intranasal consistió en 3 dosis separadas entre si por intervalos de 15 días. Cada formulación vacunal contenía 10µg de transialidasa -TS- sola, o acompañada de los adyuvantes ISPA o c-di-AMP; o solución salina -SS- como control. Finalizado el esquema de inmunización, se extrajeron muestras de sangre para determinar los niveles de anticuerpos anti-TS (IgG1 e IgG2a). Posteriormente, los animales fueron desafiados por vía oral con 3000 parásitos de la cepa Tulahuén (infección subletal). La parasitemia y la condición clínica (score clínico basado en la aparición de los siguientes signos: piloerección [puntaje:1], encorvamiento [puntaje:1,5], afectación ocular [puntaje:2], disminución de la movilidad [puntaje:2,5], diarrea [puntaje:3]), se evaluaron hasta el día 100 post-infección (pi). Las F inmunizadas con TS+c-di-AMP o TS+ISPA mostraron niveles elevados de IgG2a e IgG1 específicos en comparación con las que solo recibieron TS o SS (p <0,05 en ambos casos). Por el contrario, los M no mostraron diferencias en ambas subclases de anticuerpos entre todos los grupos, mientras que los niveles de IgG1 en los grupos TS+c-di-AMP o TS+ISPA fueron menores que los observados en las respectivas F (p<0,05 en ambos grupos). Las parasitemias fueron más elevadas en M que en F en los grupos TS+ISPA y TS+c-di-AMP (por ejemplo, día 17 pi, F vs M p <0,05 en ambos casos), y decayeron más tardíamente, alrededor del día 45 pi. En el grupo TS+c-di-AMP, los signos clínicos asociados a la infección aguda fueron menos evidentes en F que en M (score clínico, p <0,05). Los resultados obtenidos sugieren que el sexo influye en la inmunogenicidad y la respuesta protectora de las formulaciones vacunales

#### Área Modelos Experimentales | MOE

evaluadas. Por esta razón, la inclusión de ambos sexos en los estudios preclínicos de vacunas para Chagas se vuelve cada vez más imperiosa.

Número de resolución del CICUAL: 0807/2020

Palabras claves: Vacuna, Transialidasa, Dimorfismo Sexual.

#### **MOE-36**

# ESTUDIO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS ORAL Y DESARROLLO DE ESTRATEGIAS PROFILACTICAS EN MODELO MURINO

Pacini, M.F.<sup>1</sup>; Dinatale, B.<sup>1</sup>; Bulfoni Balbi, C.<sup>1</sup>; González, F.<sup>1</sup>; Villar, S.<sup>1,2</sup>; Farré, C.<sup>1,2</sup>; Chapo, G.<sup>2</sup>; Prochetto, E.<sup>3</sup>; Magni, C.<sup>4</sup>; Marcipar, I.<sup>3</sup>; Barreto-de-Albuquerque, J.<sup>5</sup>; Savino, W.<sup>5</sup>; de Meis, J.<sup>5</sup>; Pérez, A.R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Inmunología Clínica y Experimental de Rosario - IDICER CONICET- Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica - Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Biología de Rosario - IBR CONICET-Universidad Nacional de Rosario, Rosario, Argentina. <sup>5</sup>Laboratorio de Pesquisas sobre o Timo, Instituto Oswaldo Cruz, Fundación Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. pacini@idicer-conicet.gob.ar

La enfermedad de Chagas oral es causada por la ingesta de alimentos contaminados con el parásito Trypanosoma cruzi. Esta importante vía de infección ha sido escasamente estudiada, por lo tanto, en este trabajo nos propusimos dos objetivos: desarrollar dos modelos murinos de infección oral a fin de caracterizar el desarrollo de la respuesta inmune que se desencadena; y evaluar un modelo de inmunización profiláctica capaz de contrarrestar la infección cuando el parásito ingresa por vía oral. Para el primer objetivo, machos BALB/c (n=5/6 por grupo) fueron infectados en la mucosa bucal (MB) y a nivel gástrico por "gavage" (MG). Posteriormente se evaluó parasitemia, mortalidad, citocinas y daño tisular. Para el segundo objetivo, ratones hembras BALB/c (n=5/6 por grupo) fueron inmunizadas de forma intranasal con una formulación que contenía transialidasa-(TSr) emulsionada en el adyuvante di-AMP-cíclico (3 dosis cada 15 días). Luego los animales fueron desafiados por vía oral con una dosis no letal de T. cruzi y posteriormente se analizó el correlato de inmunidad (parasitemia, anticuerpos, respuesta celular, score clínico). Los animales fueron mantenidos en gabinetes con filtros HEPA y se siguieron las normas del CICUAL (Res.N°:6698/2014). Los animales infectados en la MB desarrollaron una enfermedad más severa en términos de parasitemia y mortalidad que los infectados por vía MG (\*p<0.05 MB vs MG). Asimismo, ambos modelos presentaron un patrón de expresión de citocinas y daño tisular diferente. La inmunización nasal redujo visiblemente la parasitemia, el score clínico y el daño tisular tras el desafío con T. cruzi en la MB. La protección lograda por la vacuna experimental se asoció a un incremento en los niveles de anticuerpos anti-TS tanto a nivel sérico (IgG2a; \*\*p<0,01 vs resto) como en heces (IgA; \*p<0,05 vs control), mayor respuesta de hipersensibilidad retardada (realizada en la almohadilla plantar post-inmunización) y un aumento en la proporción de linfocitos T-CD8+IFN-γ+. En conjunto, estos estudios, evidencian que los distintos mecanismos de defensa a nivel de la mucosa oral llevan a un cuadro y desenlace diferente de la enfermedad experimental, e incluso que es posible atenuar las consecuencias de la enfermedad de Chagas oral a través de un esquema profiláctico a nivel de mucosa nasal. Palabras clave: vacuna, transialidasa, enfermedad de chagas.

Área Educación y Entrenamiento | EYE

#### **EYE-01**

# EL PEZ CEBRA (Danio rerio) COMO MODELO ANIMAL PARA EL APRENDIZAJE DE TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE HUEVOS EN ESTUDIANTES DE BIOLOGIA DE LA UNSa

#### Vargas, G.1; García, R.1

<sup>1</sup>Cátedra de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Naturales, UNSa, Salta. Argentina. bio\_gabriela@yahoo.com.ar

El pez cebra es utilizado como modelo animal en nuestro laboratorio de Zoología desde el año 2011 en actividades de investigación y docencia. En el marco de las actividades acreditables los alumnos de Licenciatura en Biología realizaron una práctica de asistencia en laboratorio a la tarea científica denomina técnicas para la obtención de huevos de pez cebra (Danio rerio). El objetivo de esta práctica fue capacitar a los estudiantes en la aplicación de técnicas para la obtención de huevos y observación de las primeras etapas del desarrollo embrionario del pez cebra. Los estudiantes se organizaron en dos grupos de 4 integrantes, grupo A y grupo B, cada uno realizó el siguiente procedimiento para la obtención de los huevos: El día anterior al apareamiento separaron hembras y machos en tanques de policarbonato, mediante una barrera de plástico en una relación de 2 hembras por cada 1 macho. A la mañana del día de la puesta, aparearon los peces, sacando la barrera de plástico y extrajeron aqua de las parideras dejándola hasta el nivel de la aleta caudal de los peces; luego de 30 minutos observaron cuáles de las parideras fueron positivas y negativas. Las positivas fueron aquellas en donde se podía observar en el fondo los huevos. Éstos se colectaron pasándolos por un tamiz de acero inoxidable y lavando varias veces con medio embrionario (ME). Una vez obtenidos los huevos procedieron bajo lupa a controlar fecundidad, estadio y viabilidad. De la totalidad de huevos en condiciones de viabilidad incubaron en una relación de 50 huevos/ 25 mL de ME en placas de Petri plásticas de 100 mm de diámetro en estufa de cultivo a 28,5°C. Los embriones se dejaron incubando hasta los 5 días y luego fueron pasados a los tanques de cría para renovación de planteles. En el grupo A se obtuvieron 300 huevos, de los cuales se registraron 100 no fecundados, con la ayuda de la tabla del desarrollo embrionario de Kimmel et al. 1995, identificaron solo un periodo del desarrollo: periodo de división de dos, cuatro, seis y ocho células. En el grupo B se obtuvieron 100 huevos, de los cuales se registraron 30 no fecundados e identificaron dos periodos de desarrollo: periodo cigota y periodo de división de dos, cuatro células. Los estudiantes de ambos grupos demostraron gran interés por conocer la temática, desarrollaron destreza durante la manipulación en la obtención de huevos y la observación e identificación de los estadios del desarrollo, logrando alcanzar un aprendizaje significativo. La actividad propuesta fue aprobada por el CICUALEC de la Facultad de Ciencias Naturales (R-C-DNAT-2019-0290) y permitió destacar el valor del pez cebra como modelo animal para ser utilizado como herramienta didáctica en la enseñanza de la biología del desarrollo de otros vertebrados.

Palabras clave: modelo animal, huevos de pez cebra, estudiantes de biología, aprendizaje.

#### **EYE-02**

# ENFOQUES Y EXPERIENCIA DE LA DOCENCIA DE POSGRADO DESTINADA AL CUIDADO Y BUEN USO DE ANIMALES DE LABORATORIO

#### Nicasio, M.L.<sup>1,2</sup>; Bermúdez, V.<sup>1,2</sup>; Lemus, G.<sup>2</sup>; Salvador, G.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Bahía Blanca, Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina.

mlnicasio@inibibb-conicet.gob.ar

La educación y el entrenamiento en estudiantes de posgrado que requieren el uso de animales de laboratorio (AL) para sus planes de tesis constituye un aspecto clave para asegurar la competencia profesional, la adherencia a las 3Rs y la ejecución de proyectos de alta calidad en consonancia con los criterios de bioética que rigen a nivel internacional. Desde el año 2008 en la sede del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia dependiente de la Universidad Nacional del Sur (DBByF-UNS) y avalado por

#### Área Educación y Entrenamiento | EYE

la secretaria General de Posgrado y Educación Continua se brinda el curso "Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio: aplicaciones en biomedicina". Este curso está destinado a alumnos de posgrado que requieran entrenamiento en el uso de AL y en el mismo se brindan conceptos actualizados en lo que respecta al cuidado y buen uso de animales vertebrados para la investigación científica. De acuerdo a la normativa del Comité Institucional para el cuidado y Uso de animales de laboratorio (CICUAL), la realización de este tipo de cursos es condición excluyente para el desarrollo de las actividades de investigación que involucren el uso de AL en el ámbito del DBByF. La modalidad de cursado es teórico-práctica y desde el año 2012 el dictado es anual. Actualmente, en el plantel docente participan investigadores con experiencia en el uso de AL y médicos veterinarios. En ediciones especiales se ha contado con la presencia de especialistas en ciencias de animales de laboratorio de otras universidades. Las actividades curriculares que involucra el curso comprenden conceptos de ética y legislación, métodos alternativos al uso de AL, aspectos biológicos de las especies más utilizadas, conceptos de calidad genética y microbiológica de los animales de laboratorio, aspectos del diseño y equipamiento de bioterios y barreras sanitarias, modelos animales, técnicas de refinamiento y aspectos relacionados a los CICUALES. Una vez aprobados los módulos teóricos, y a partir de la reutilización de animales que han cumplido su ciclo de vida dentro del bioterio y cuyo destino es la eutanasia, se realiza el entrenamiento práctico. Esto permite que los alumnos adquieran habilidades para trabajar con AL de forma consonante con el criterio de refinamiento. Los principales aspectos prácticos que se desarrollan son la manipulación, la sujeción y el sexado de los animales. Se realizan protocolos de administración de sustancias y tomas de muestras, participan en la aplicación de protocolos se sedación, anestesia y analgesia y finalmente pueden presenciar la realización de eutanasia con la posterior necropsia del animal todo realizado bajo condiciones estrictas de refinamiento. La implementación de este curso ha mejorado sustancialmente las habilidades de los alumnos de posgrado en el manejo ético de los animales de experimentación, situación que se evidencia en la continua evolución de los protocolos experimentales presentados por los distintos grupos de investigación para su aprobación por el CICUAL del BByF- UNS.

Palabras clave: docencia de posgrado, refinamiento, cuidado y uso de AL.

Área Ética y Bienestar Animal | EBA

#### **EBA-01**

REFINAMIENTO QUIRÚRGICO EN FÉMUR DE RATAS PARA PROBAR IMPLANTES DENTALES: UN ESTUDIO PILOTO DE NUEVO INDICADOR DE BIENESTAR ANIMAL

Maschi, F.<sup>1</sup>; Resasco, A.<sup>1</sup>; Carriquiriborde, M.<sup>1</sup>; Cagliada, P.<sup>1</sup>; Milocco, S.<sup>1</sup>; Beltrano, J.<sup>2</sup>; Vercellini, C.<sup>1</sup>; Carranza, A.<sup>1</sup>; Laborde, J.; Carbone, C.<sup>1</sup>; Klug Gómez, K.<sup>1</sup>; Ayala, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de animales de experimentación (LAE) Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. <sup>2</sup>Facultad de Odontología, UNLP. Argentina.

fmaschi@fcv.unlp.edu.ar

El refinamiento de las diferentes técnicas experimentales es una parte de suma importancia en la ciencia de animales de experimentación. En publicaciones previas establecimos las mejoras de las técnicas que pueden lograrse en estudios de regeneración ósea en el fémur de ratas adultas. Para ello se implementaron diversos procedimientos quirúrgicos, se evaluaron diferentes condiciones de alojamiento post cirugía y se aplicaron distintos indicadores de bienestar animal (BA). El objetivo de este estudio fue la implementación de un nuevo indicador del BA que contribuya con la interpretación del operario en la recuperación del animal y por consiguiente en su bienestar en la fase post quirúrgica. Para ello, se emplearon 3 ratas WKAH/Hok alojadas en condiciones de SPF. Después del acto quirúrgico, se controló el manejo del dolor y la terapia antibiótica a las ratas. Su peso, consumo de alimentos y rendimiento en la prueba de las huellas se midieron antes y después de la cirugía, y se compararon utilizando el test de t apareado. Para la prueba de huellas se realizó un pasadizo estrecho por donde transitaron los animales (dos semanas post cirugía), marcando sobre el papel que se coloca en el piso del mismo las huellas de los miembros posteriores que han sido impregnadas previamente en una tinta inocua para los animales. De la impronta dejada, posteriormente se toman las longitudes del largo de la huella, la distancia desde los dedos 1 y 5; y la distancia entre los dedos 2 y 4, y además la distancia entre pasos. Con estas medidas se obtuvo un índice de severidad. Los animales pre-cirugía obtuvieron un valor para la prueba de huellas de 14,11 ±7,30, mientras que las ratas post-cirugía alcanzaron un valor de 45,09 +22,73. No se detectaron diferencias significativas en la prueba de las huellas ni en el peso de los animales (p>0,05). Sin embargo, las ratas consumieron significativamente menos alimento después de la cirugía (p<0,05). Cuando se realizó cálculo del tamaño muestral para la prueba de las huellas, se detectó que para obtener diferencias significativas con una significancia del 0,05% y un poder del 80%, serían necesarios 6 animales por grupo. En conclusión, a partir de los datos obtenidos pudimos determinar la variabilidad de la muestra y estimar la cantidad de animales necesarios para establecer si éste es un indicador apropiado de bienestar animal. Este trabajo fue aprobado por el Cicual de la FCV UNLP con el nro 57-1-16P.

Palabras clave: bienestar animal, refinamiento, ratas.

#### **EBA-02**

HOW TO IMPROVE THE SURVIVAL OF FEMALE CF-1 MICE DURING THE INFECTION VIA THE PORTAL VEIN WITH *Echinococcus granulosus* PROTOSCOLECES?

Scioscia, N.P.<sup>1,2</sup>; Pensel, P.E.<sup>1,2</sup>; Albani, C.<sup>1,2</sup>; Fabbri, J.<sup>1,2</sup>; Denegri, G.M.<sup>1,2</sup>; Elissondo, M.C.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Producción Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), CONICET-UNMdP, Centro de Asociación Simple CIC PBA, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Zoonosis Parasitarias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. patriciapensel@gmail.com

#### Área Ética y Bienestar Animal | EBA

Portal vein injection is a technique used for the development of different murine models of pathologies and parasitic diseases in the liver. These procedures require laparotomy and must be performed under anesthesia and analgesia to prevent discomfort, pain and /or distress. In order to optimize the survival rate of animals, the purpose of this study was to evaluate an injectable anesthesia protocol for the development of a murine model of hepatic cystic echinococcosis in female CF-1 mice. Animal procedures and management protocols were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the Faculty of Exact and Natural Sciences, National University of Mar del Plata (RDs 468/17 and 211/2018). Forty three mice (Mus musculus; 6-7 weeks of age, body weight 26 ± 2 g) were allocated into six groups: 1) ketamine/xylazine 100/10 mg/kg; 2) pre-anesthetic drugs + ketamine/xylazine 100/10 mg/kg; 3) preanesthetic drugs + ketamine/xylazine 100/10 mg/kg + yohimbine; 4) ketamine/xylazine 80/8 mg/kg; 5) preanesthetic drugs + ketamine/xylazine 80/8 mg/kg; and 6) pre-anesthetic drugs + ketamine/xylazine 80/8 mg/kg + yohimbine. Atropine sulfate (0.4 mg/kg, subcutaneously) and tramadol hydrochloride [2 mg/kg, via intraperitoneal (IP)] were administered as pre-anesthetic drugs. The anesthetic cocktail (ketamine/xylazine) was applied IP and after confirming the loss of reflexes of mice, portal vein infection with Echinococcus granulosus protoscoleces was carried out. Yohimbine (a reverser of xylazine, 0.5 mg/kg) was injected IP immediately at the end of the suture. All groups achieve a deep surgical anesthetic plane and profound analgesia, except mice treated only with ketamine/xylazine at the doses of 80/8 mg/kg. Pre-anesthetic drugs application significantly reduced time induction of animals compared with those that received only the anesthetic cocktail (P < 0.05). The mice that underwent laparotomy and received yohimbine after surgery had a survival rate of 100 %. Moreover, treatment with yohimbine significantly reduced the recovery time of mice treated with pre-anesthetic drugs and ketamine/xylazine 80/8 mg/kg. In addition, we found differences between the response to the doses of ketamine/xylazine in animals treated with pre-anesthetic drugs and yohimbine. The recovery time of mice treated with ketamine/xylazine 80/8 mg/kg was significantly faster than that observed under doses of 100/10 mg/kg, respectively (P < 0.01). Therefore, the duration of action was significantly shorter when the applied doses of ketamine/xylazine were 80 and 8 mg/kg. We recommend the protocol that applied pre-anesthetic drugs + ketamine/xylazine 80/8 mg/kg + yohimbine as safe and reliable for the portal vein infection of mice with protoscoleces of E. granulosus.

Keywords: hepatic cystic echinococcosis, anesthetic balance, refinement.

#### **EBA-03**

# IMPACTO DE LA PIROTECNIA EN EL COMPORTAMIENTO DE GATOS DE COLONIA COMO ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Coralli, F.<sup>1,3</sup>; García Mitacek, M.C.<sup>1,2</sup>; Nuñez Favre, R.<sup>1,2</sup>; Stornelli, M.C.<sup>1</sup>; Stornelli, M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. <sup>2</sup>CONICET. Argentina. fcoralli@fcv.unlp.edu.ar

El cortisol y la glucemia se utilizan como indicadores de estrés para monitorear el bienestar animal. Asimismo, la observación de cambios en el comportamiento de los animales puede utilizarse como método no invasivo para evaluar el estrés. El objetivo fue evaluar la postura (POS) y la interacción con el operador (INT) de gatos (Felis catus) de colonia de experimentación en respuesta al estímulo auditivo generado por la pirotecnia en días festivos durante la pandemia. Se utilizaron gatas (n=8) mestizas enteras de 2-5 años (2-4 kg) y gatos (n=7) mestizos enteros de 4-7 años (3,5-4,5 kg) pertenecientes a la colonia de la Cátedra de Reproducción Animal, FCV UNLP. Se realizó un etograma a fin de registrar la POS y la INT. Se registraron datos con una escala ad hoc, siendo para la POS: 1 relajado, 2 alerta, 3 tenso y 4 temeroso; y la INT: 1 busca contacto, 2 indiferente, 3 agresivo, 4 retrocede. Los registros se llevaron a cabo una semana antes de las fiestas (Ant), en Navidad (Na), Año nuevo (An) y una semana después de las fiestas (Des) en el período previo a la pandemia 2019/2020 (PC) y en pandemia 2020/2021 (PP). El estudio contó con la aprobación del CICUAL de la FCV, UNLP (115-7-21P). Los datos fueron analizados mediante Glimmix de SAS®. El estímulo auditivo generado por la pirotecnia produjo modificación del comportamiento de los gatos, lo cual se manifestó de manera similar en ambos sexos (Tabla 1). Sin embargo, al comparar hembras con machos se pudo observar diferencias significativas en la POS en Na (p<0.006) y An (p<0.02) en el PC. Además, se pudo observar diferencias significativas en la POS en machos en Na al comparar el PC con el PP (p<0.002) y en hembras en An al comparar el PC con el PP (p<0.0001). Se ha comunicado que en la pandemia se

#### Área Ética y Bienestar Animal | EBA

produjo una caída en el uso de pirotecnia durante los días festivos, hecho que demostró producir menos estrés en gatos de colonia. En conclusión, estímulos auditivos aversivos como el generado por la pirotecnia producen cambios en el comportamiento de gatos de colonia, por lo tanto, es probable que la medición de parámetros como el cortisol y glucemia puedan arrojar valores sesgados durante los días festivos debido al efecto estresante que genera la pirotecnia en los animales de experimentación.

Tabla 1. Resultados del etograma de la postura (POS) y la interacción con el operador (INT) en gatos hembras y machos

	Hembras		Machos	
POSTURA	PC	PP	PC	PP
Ant	1,25 ± 0,2°	$1,00 \pm 0,2^a$	1.42±0,2 <sup>a</sup>	1.42±0,2 <sup>a</sup>
Na	1,75 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,2 <sup>b</sup>	2.57±0,2 <sup>b*</sup>	1.85±0,2 <sup>b**</sup>
An	3,00 ± 0,2 <sup>b*</sup>	1,87 ± 0,2 <sup>b**</sup>	2.28±0,2 <sup>b</sup>	2.28±0.2 <sup>b</sup>
Des	1,00 ± 0,2 <sup>a</sup>	$1,00 \pm 0,2^a$	1.28±0,2°	1.28±0,2°
INTERACCIÓN				
Ant	1,25 ± 0,4°	1,87 ± 0,4°	1.42±0,4°	1.57±0,4°
Na	3,25 ± 0,4 <sup>b</sup>	2,75 ± 0,4 <sup>b</sup>	2.28±0,4 <sup>b</sup>	2.28±0,4 <sup>a</sup>
An	2,75 ± 0,4 <sup>b</sup>	$3,00 \pm 0,4^{b}$	2.28±0,4 <sup>b</sup>	2.57±0,4 <sup>b</sup>
Des	1,87 ± 0,4 <sup>a</sup>	$2,25 \pm 0,4^{a}$	1.57±0,4°	2.00±0,4 <sup>a</sup>

Valores presentados como CCM ± ES. Significancia p<0,05. Letras diferentes por columna indican diferencias significativas. Los signos (\*/\*\*) entre columnas indican diferencias significativas. Palabras clave: *Felis catus*, pirotecnia, comportamiento.

#### **EBA-04**

# EVALUACION DEL IMPACTO EN EL BIENESTAR ANIMAL PRODUCTO DEL TRASLADO DEL BIOTERIO DEL INSTITUTO DE ONCOLOGIA "ANGEL H. ROFFO" Pelagatti, M.<sup>1</sup>; Cardozo, P.<sup>1</sup>; Chamorro, M.<sup>1</sup>; Diament, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Fac. de Medicina. IOAHR, Área de Investigación, Dpto Bioterio y Cáncer experimental. Buenos Aires. Argentina. marinipelagatti@yahoo.com.ar

El transporte de animales tiene un impacto directo sobre el bienestar animal y en la validez científica de cualquier estudio futuro que implique su uso. Ante el cambio de locación de nuestro Bioterio, se propusieron distintos indicadores para evaluar el bienestar y estado sanitario de los ratones. Se elaboró un protocolo de supervisión personalizado incluyendo indicadores comportamentales y físicos para detectar los efectos adversos conductuales y fisiológicos producidos por el estrés. Se realizó un examen coproparasitológico por las técnicas: enriquecimiento de Sheather, directo en fresco y cinta adhesiva para test de Graham. En nuestra colonia de animales el grado de infestación por Syphacia obvelata es bajo, por lo que la detección de un mayor número de formas parasitarias luego del traslado se consideró un indicador de estrés dado que este incrementa el riesgo de padecer enfermedades. Se realizó un muestreo de todos los animales a las 24 h y a los 30 días post traslado. Como indicadores hematológicos se evaluó la relación neutrófilo/linfocito (N/L), recuento de glóbulos blancos y microhematocrito, en un muestreo aleatorio por sorteo de 10 animales de 6-8 semanas de edad, 5 hembras y 5 machos de cada cepa, BALB/c y C57BL/6JRoffo. Se realizó la punción de la vena superficial temporal a las 24 h, 30 y 40 días post traslado, para realizar las determinaciones propuestas. Para la determinación del microhematocrito se utilizaron capilares con EDTA y se realizó la lectura con Abaco. Se utilizó la prueba t de Student para determinar las diferencias significativas (p<0,05). Se evaluó la performance reproductiva con el índice de fertilidad promedio, índice de apareamientos productivos promedio, porcentaje de destete promedio, intervalo entre partos promedio e índice de productividad, utilizando los registros diarios de todos los animales reproductores de ambas cepas. Con el protocolo de supervisión no se observaron alteraciones fisiológicas ni comportamentales. Los animales de todas las categorías evidenciaron un aumento de peso acorde respecto al registrado 48 h antes del traslado. En el test de Graham de las hembras C57BL/6JRoffo se vio un mayor número de huevos compatibles con Syphacia obvelata en el primer muestreo que disminuyó al mes, siendo el único cambio registrado en el status parasitario de la colonia. En ambas cepas se observó una disminución de la relación N/L a los 30 días respecto a los valores obtenidos a las 24 h del traslado

#### Área Ética y Bienestar Animal | EBA

(inicial). Los recuentos de glóbulos blancos en los BALB/c fueron menores a los 30 días respecto a la medición inicial. En la subcepa C57BL/6JRoffo, estos fueron más altos, disminuyendo 10 días después. El índice de productividad de BALB/c en los meses de febrero y marzo fue menor, mientras que en el mes de mayo superó los valores obtenidos durante el mismo período del año 2020. Si bien no se observaron cambios fisiológicos ni comportamentales, la relación N/L y el recuento de glóbulos blancos son buenos indicadores de estrés, siendo ambas técnicas sencillas y accesibles con mínimas molestias para el animal. La cepa BALB/c requirió menor tiempo de adaptación respecto a la subcepa C57BL/6JRoffo. El impacto a nivel reproductivo fue evidente para la cepa BALB/c; en la subcepa C57BL/6JRoffo los resultados no fueron concluyentes. El test de Graham podría ser una herramienta útil para evidenciar cambios en el estado de salud no apreciables a simple vista.

N° de proyecto aprobado por el CICUAL del IOAHR: 261119.

Palabras clave: traslado, estrés, bienestar

#### **EBA-05**

# ENSAYO PILOTO: ANESTESIA GENERAL DE LARGA DURACIÓN EN RATAS UTILIZANDO ISOFLUORANO Y REMIFENTANILO

Salinas, F.J.<sup>1</sup>; Díaz, P.U.<sup>1</sup>; Salvetti, N.R.<sup>1</sup>; Ortega, H.H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. facundo2495@hotmail.com

Durante la realización de procedimientos experimentales en animales de laboratorio es importante contar con estrategias que garanticen una anestesia equilibrada. El uso de opioides para el control del dolor ha aumentado en animales de laboratorio. El principio clínico de sedación basada en analgesia (SBA), busca maximizar la comodidad, minimizar la angustia y proporcionar sedación profunda mediante analgésicos, en comparación con la sedación basada en hipnóticos que tienen poca o ninguna potencia analgésica. El remifentanilo es un potente analgésico y sedante opioide agonista del receptor μ, y sufre una rápida metabolización por esterasas plasmáticas y tisulares. La rápida aparición y desaparición de sus efectos lo convierten en un candidato ideal para la anestesia continua, aunque puede ocasionar depresión respiratoria y desbalances hemodinámicos. De acuerdo a lo detallado se estableció como objetivo establecer un protocolo aprovechando las bondades del remifentanilo y el isoflurano para su utilización desde maniobras semiológicas hasta abordajes quirúrgicos. Como prueba piloto, se utilizaron 2 ratas Wistar/Cmedc (An1 y An2) con certificación sanitaria, de 3 meses de edad, machos, peso promedio 370g. Todas las actividades se realizaron dentro del Centro de Medicina Comparada y fueron aprobadas por el Comité de Ética y Seguridad de la FCV-UNL (prot. 632/21). Los animales fueron inducidos en cámara con isoflurano al 5% del volumen de oxígeno (0.75 L/min), colocados en decúbito esternal sobre una manta térmica a 34°C, luego la vena lateral de la cola fue canalizada con un catéter endovenoso 22G. Posteriormente se redujo la concentración del isoflurano a 2% (0.5L/min) y se conectó el catéter a una bomba de infusión continua. Se utilizaron dosis de remifentanilo de 0.4 y 1.4 µg/kg/min durante una hora para los An1 y An2, respectivamente. Se evaluaron los siguientes parámetros en 5 tiempos tomados cada 12 minutos (tiempo 1 basal pre inducción; tiempos 2 al 5 durante el mantenimiento): frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), presión de oxígeno (PO2), temperatura y sensibilidad superficial y profunda utilizando una escala del 1 al 3 (1= sin sensibilidad, 2= disminuida y 3= normal). Como resultados se observó que la FC en el An1 fue: 151, 161, 167, 157, 146 lat/min y en el An2 149, 138, 145, 146, 149 lat/min. La FR en el An1 fue: 60, 80, 60, 40, 40 resp/min y en el An2 60, 20, 32, 24, 20 resp/min. La Temperatura fluctuó entre 36.7 y 37.2 °C para el An 1 y entre 36.0 y 36.8 °C para el An2. Los valores de presión de O2 en el An1 se mantuvieron entre 91 y 95 mmHg y en el An2 entre 92 y 94 mmHg. Además, se observó que el An2 no presentó sensibilidad superficial, mientras que en el An1 la misma tardó 24 minutos en abolirse. Esto fue similar para la evaluación de la sensibilidad profunda donde el An2 no presentó sensibilidad y el An1 presentó una sensibilidad grado 2 en todos los tiempos. La utilización de la combinación anestésica de isoflurano 2% y remifentanilo 1.4 µg/kg/min durante el mantenimiento permite abolir la sensibilidad superficial y profunda y mantener los parámetros fisiológicos dentro de valores aceptables para la realización de maniobras quirúrgicas generales. Estos resultados deberían ser confirmados en estudios posteriores. Palabras claves: Anestesia, Ratas, Cirugías.

Otras Áreas | OTA

#### **OTA-01**

CONTROLES SANITARIOS EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN: INCORPORACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS AL DIAGNÓSTICO DE RUTINA DEL LAE

Cagliada, P.<sup>1</sup>; Carriquiriborde, M.<sup>1</sup>; Laborde, J.<sup>1</sup>; Milocco, S.<sup>1</sup>; Almirón, J.<sup>1</sup>; Maschi, F.<sup>1</sup>; Rogers, E.<sup>1</sup>; Ressasco, A.<sup>1,2</sup>; Carranza, A.<sup>1</sup>; Vercellini, C.<sup>1</sup>; Carbone, C.<sup>1</sup>; Ayala, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Animales de Experimentación-LAE. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. <sup>2</sup>Instituto de Biología Celular y Neurociencia, Prof. De Robertis (IBCN) (CONICET) Facultad de Medicina, UBA, CABA, Argentina. pcagliada@fcv.unlp.edu.ar

El Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE) de la Facultad de Cs. Veterinarias de la UNLP (FCV-UNLP) cuenta con una reconocida trayectoria y 27 años de experiencia en el control sanitario de animales de laboratorio. El rápido avance en esta área impulsó la implementación de nuevas técnicas para el diagnóstico de microorganismos que afectan a estos animales, permitiendo incorporar para los controles de sanidad en los bioterios, otros agentes patógenos recomendados por FELASA (Federación de Asociaciones Europeas de Ciencia de Animales de Laboratorio). Por lo antes expuesto y debido a la adquisición de nuevos equipos y a la continua capacitación de nuestro personal, sumamos a los controles bacteriológicos, serológicos y parasitológicos de rutina, técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), mejorando la sensibilidad en el diagnóstico. Además de facilitar la detección de nuevos agentes patógenos, esta técnica, nos permitió evaluar el estado sanitario de las colonias a través de muestras de heces, tejidos, sangre, hisopados, etc. Este último punto, significa un gran beneficio para los usuarios ya que el envío de animales vivos es costoso, requiere de una preparación previa y algunos bioterios de experimentación no cuentan con el número suficiente para realizar el control o cuando los animales son de alto valor económico. También se ha extendido este servicio para usuarios de otras especies, como el pez cebra, que en la actualidad es el modelo animal vertebrado inferior de elección después del ratón utilizado para el estudio de enfermedades humanas y/o animales en relación con el avance en áreas de genética, neurología y biología molecular ya que permite extrapolar resultados de ésta especie al humano y otros animales. El LAE ofrece un servicio de control sanitario de animales de experimentación destinado a Bioterios y/o grupos de investigación de Instituciones estatales y privadas, nacionales o extranjeras habiendo alcanzado estándares internacionales mediante la inclusión de éstas nuevas técnicas de diagnóstico.

Palabras clave: controles, diagnóstico, PCR.

#### **OTA-02**

# CONTROL DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS DE PEZ CEBRA (Danio rerio) UTILIZADOS EN EXPERIMENTACIÓN EN COLONIAS DE ARGENTINA

Laborde, J.M.¹; Carriquiriborde, M.¹; Almirón, J.¹; Resasco, A.¹,²; Milocco, S.¹; Maschi, F.¹; Carranza, A.¹; Vercelini, C.¹; Carbone, C.¹; Cagliada, P.; Ayala, M.¹¹Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE). Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Nacional de La Plata, Argentina. ²Instituto de Biología Celular y Neurociencia, Prof. De Robertis (IBCN) (CONICET) Facultad de Medicina, UBA, CABA, Argentina. juanmartinlaborde@gmail.com

El pez cebra, *Danio rerio* actualmente se considera como modelo animal en ensayos de desarrollo embrionario, análisis de la función genética y mutagénesis. Las características que posee tales como una alta fecundidad, fertilización externa y mecanismos moleculares del desarrollo del embrión similares a todos los vertebrados, permitieron que el pez cebra se haya convertido gradualmente en el modelo

#### Otras Áreas | OTA

vertebrado inferior más utilizado luego del ratón. Muchos de los microorganismos que afectan a esta especie capaces de alterar los resultados en las investigaciones son patógenos primarios y/o oportunistas que pueden causar infecciones subclínicas pero que en condiciones de estrés, técnicas de manejo deficientes y mala calidad del agua pueden desarrollar enfermedad. Los signos de infección pueden incluir una ligera disminución en la eficiencia reproductiva, una reducción en el apetito o el crecimiento y/o un aumento en la mortalidad en las colonias. Los peces utilizados en investigación con un status sanitario desconocido pueden ser un riesgo potencial para la salud de las personas que los utilizan y dar resultados experimentales erróneos, dificultades para la repetición de las experiencias y la utilización innecesaria de mayor número de animales para demostrar significación estadística. En nuestro país son varias las instituciones públicas y privadas que utilizan este modelo animal en sus investigaciones, pero no se tiene registro de controles sanitarios en las colonias de peces por falta de laboratorios de diagnóstico que los realicen. El objetivo de este trabajo fue conocer el status sanitario de las colonias de producción e investigación del pez cebra en nuestro país mediante la implementación de un control sanitario con técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de cultivo bacteriológico de acuerdo con una lista de los patógenos más prevalentes en esta especie consensuada internacionalmente. Los resultados hallados en un total de 60 peces provenientes de bioterios públicos y privados de nuestro país, mediante la utilización de técnicas de diagnóstico moleculares demostraron que el 50% de las colonias de peces analizadas están contaminadas con Mycobacterium spp, 100% con Aeromonas hydrophila, 33% con Ichthyopthirius multifiliis, 33% con Pseudoloma neurophylia y por cultivo bacteriológico se determinó la presencia de Pseudomonas fluorescens y P. aeruginosa en el 90% de las muestras. Las especies de Mycobacterium spp, son patógenos potencialmente zoonóticos y Mycobacterium marinum es la especie con mayor frecuencia en infecciones zoonóticas en humanos. De acuerdo con los resultados obtenidos se concluye que es recomendable la implementación de un programa de control sanitario en las instalaciones del pez cebra, para prevenir los riesgos que conlleva usar animales contaminados y evitar variables experimentales en los resultados de las investigaciones.

Palabras clave: pez cebra, PCR, diagnóstico.

#### **OTA-03**

# EVALUACIÓN DE PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DURANTE EL CICLO ESTRAL EN GATAS COMO ANIMALES DE LABORATORIO

Carrasco Sangache, W.F.<sup>1,3</sup>; García Mitacek, M.C.<sup>1,2</sup>; Stornelli, M.C.<sup>1</sup>; García, M.F.<sup>1,2</sup>; Coralli, F.L.<sup>1</sup>; Stornelli, M.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. <sup>2</sup>CONICET. Argentina. wfcarrascos@gmail.com

Estudios realizados en animales de experimentación como Microtus arvalis, han demostrado variaciones en los parámetros hematológicos durante las etapas del ciclo estral. El objetivo fue evaluar cambios en los parámetros hematológicos durante el ciclo estral en gatas (Felis catus) pertenecientes a la colonia de experimentación de la Cátedra de Reproducción Animal, FCV UNLP. Se utilizaron gatas (n=8) mestizas de 2-5 años y 2-4 kg. Los animales fueron sometidos a un régimen de luz artificial de fotoperiodo largo mediante la utilización de lámparas de led de 1200 Lúmenes (14 hs luz, 10 hs de oscuridad), a fin de obtener la ciclicidad. El experimento contó con la aprobación del CICUAL de la FCV UNLP (112-3-20P). Las gatas fueron controladas mediante citología vaginal y signología conductual cada 48 hs para determinar la etapa del ciclo estral. El primer día del estro e interestro se tomaron muestras sanguíneas y posteriormente fueron procesadas mediante un analizador hematológico semiautomatizado y el conteo leucocitario diferencial se realizó en frotis sanguíneo teñido con May Grünwald Giemsa. Los parámetros hematológicos fueron descriptos en la Tabla 1. Los datos se analizaron mediante Glimmix de SAS®. No se observaron diferencias significativas en el eritrograma entre las diferentes etapas del ciclo estral. Sin embargo, en el leucograma se observó un mayor número de leucocitos durante el estro en comparación al interestro (p<0,0001) ocasionado principalmente por el incremento en la cantidad de neutrófilos (p<0,0001) y en menor medida por los eosinófilos (p=0,006) (Tabla 1). En conclusión, nuestros resultados muestran variaciones en el leucograma según la etapa del ciclo estral, sin embargo los valores se mantienen dentro de los intervalos de referencia para la especie. Estudios futuros en los cuales se evalúen paramétros hematológicos en gatas deben tener en cuenta la etapa del ciclo estral en la cual se realice la toma de muestra de sangre.

Otras Áreas I OTA

Tabla 1. Valores hematológicos durante el ciclo estral en gatas de experimentación

Parámetro hematológico	Estro	Interestro	Valor de referencia
Eritrocitos (10 <sup>6</sup> /μL)	7,67 ± 0,12	7,36 ± 0,12	5 a 10
Hematocrito (%)	38,44 ± 0,05	36,66 ± 0,05	30 a 45
Hemoglobina (g/dL)	12,94 ± 0,09	12,13 ± 0,09	8 a 15
Solidos totales (g/dL)	7,06 ± 0,12	7,22 ± 0,12	6 a 8,2
Leucocitos (/µL)	6611,11 ± 0*	6083,33 ± 0*	5500 a 19500
Neutrófilos segmentados (/µL)	4380,29 ± 0*	3602,75 ± 0*	1925 a 14625
Neutrófilos inmaduros (/µL)	0 ± 516,96	0 ± 516,96	585≤
Linfocitos (/µL)	1460,56 ± 0	1460,01 ± 0	1400 a 7000
Monocitos (/µL)	503,00 ± 0,01	505.33 ± 0,01	55 a 780
Eosinófilos (/µL)	445,11 ± 0,01*	414,21 ± 0,01*	110 a 2340
Basófilos (/µL)	19,55 ± 0,07	21,33 ± 0,07	≤585

En estro-interestro valores presentados como Media ± Error Estandar, en intervalo de referencia valores expresados como máximo y mínimo; simbolo (\*) indica diferencias significativas entre las etapas del ciclo estral. Significancia p<0,05.

Palabras claves: hemograma, ciclo estral, gata.

#### **OTA-04**

# EFECTIVIDAD DE LOS TRATAMIENTOS CONTRA Syphacia obvelata: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA EN EL MARCO DEL TRABAJO EXPERIMENTAL CON ALBENDAZOL

#### Ceol Retamal, M.1; Reinés, A.1; Pecile, A.1

<sup>1</sup>Instituto de Biología Celular y Neurociencias Prof . De Robertis (IBCN, UBA-CONICET). Argentina. m.ceolretamal@gmail.com

Para obtener resultados fiables y reproducibles en nuestros experimentos con roedores es fundamental un control periódico de los parámetros de salud. Por ello, la calidad genética y sanitaria de nuestros biomodelos debe ser prioridad para asegurar la excelencia en investigación y el compromiso con el bienestar animal. En relación a la condición sanitaria de los animales de laboratorios producidos en bioterios convencionales, la existencia de parásitos intestinales tales como Syphacia obvelata y Syphacia muris se considera una de las afecciones más comunes y persistentes en roedores. La presencia de infestación por Syphacia spp, no es deseable debido a los evidentes efectos negativos sobre los animales, tales como, muertes esporádicas en adultos, alta mortalidad post-destete, deficiencia nutricional, alteración del desarrollo físico normal, disminución de la tasa de fertilidad, alteración de la respuesta inmune, además de influir negativamente sobre el comportamiento y el bienestar animal. Para el diagnóstico y seguimiento de los animales se realizó la técnica de Graham en ratas Wistar WT y GFP y en ratones C57BL/6 y CD1 que formaban parte del plantel reproductor. Para la elección del tratamiento se realizó una revisión de bibliografía especializada y de publicaciones, de la cual se obtuvieron tres drogas de uso más frecuente: ivermectina, piperazina y albendazol. Observamos que la diferencia principal entre ellas radica en la teratogenicidad y la forma de administración. Dado que para evitar la teratogenicidad se deben separar los apareos, el número de jaulas y el espacio disponible en las salas de animales, constituyen factores clave a la hora de seleccionar tratamientos con estas características. Todas ellas resultan efectivas para la eliminación del parásito, pero en distintos lapsos de tiempos, siendo la más eficaz el albendazol administrado de forma oral directa. La duración promedio del tratamiento varía entre los 12 y 21 días. La elección de la droga y el tratamiento con drogas combinadas depende de la planificación en cuanto a la producción de animales, los costos, la administración y el grado de toxicidad según las cepas. Además, es necesario considerar el campo de estudio y los trabajos de investigación que se realizan en cada institución, ya que algunas drogas pueden interferir con los resultados experimentales. Con el albendazol se obtuvieron muy buenos resultados, en lapsos de tiempo más cortos, pero con mayor trabajo de personal calificado y con un aumento significativo en la ocupación del espacio del bioterio debido a la necesidad de desarmar

#### Otras Áreas | OTA

los apareos a causa de su teratogenicidad. Con la piperazina, se logró un tratamiento efectivo a muy largo plazo, pero con fácil manejo en cuanto a la administración y una optimización del espacio ocupado en el bioterio. Considerando así que alternar de manera anual ambos tratamientos proporciona un manejo eficaz de la parasitosis.

Palabras clave: Syphacia spp, roedores, tratamientos

#### **OTA-05**

# CRECIMIENTO SOMÁTICO DE RATAS DE LA LÍNEA IIMb/Fm EVALUADO A TRAVÉS MÉTODOS NO INVASIVOS

# Luyo Vera, L.M.<sup>1</sup>; Madrid Daza, R.A.<sup>1</sup>; Cometto, F.<sup>2</sup>; Chapo, G.<sup>3</sup>; Alonso, L.<sup>4</sup>; Menoyo, I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Química Biológica. <sup>2</sup>Área Instrumental Metodología de la Investigación Científica. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB). <sup>4</sup>Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Argentina. lidaluyo1@hotmail.com

El objetivo fue estudiar el crecimiento somático de ratas de la línea *IIMb/Fm* a través de la medición longitudinal de variables morfométricas. Se estudiaron ratas de la línea *IIMb/Fm*, 10 machos y 7 hembras, que fueron mantenidas en condiciones controladas y aprobadas por el CICUAL de la Facultad de Ciencias Médicas, UNR: Resolución N°6837/2019. Las variables medidas con los animales anestesiados, a partir de 21 días, cada 7 días, durante 17 semanas, fueron: peso corporal (PC, g), longitud total (LT, cm), longitud nasoanal (LNA, cm), eje lateral de la cabeza (EL, mm) y eje antero posterior de la cabeza (EAP, mm). Se registró el promedio del duplicado de las mediciones. Los resultados se expresan como media aritmética ± desvío estándar. Si bien los machos presentaron mayor contextura que las hembras, las variables en ambos sexos mostraron un comportamiento similar. En la tabla se muestran los resultados de las hembras.

	=				
Días	PC	LT	LNA	EL	EAP
21	37.31±4.11	17.61±0.95	11.30±0.62	15.26±0.31	34.60±0.80
28	54.98±8.24	21.48±1.32	12.97±0.57	17.14±0.75	37.08±0.61
35	82.58±10.58	25.48±1.27	14.81±0.62	19.40±0.37	39.22±0.47
42	111.41±14.81	28.42±1.56	16.35±0.78	20.22±0.32	41.07±0.32
49	136.47±19.52	30.58±1.85	17.40±0.86	20.99±0.42	42.20±0.29
56	155.27±17.00	32.70±1.21	18.55±0.57	21.47±0.33	44.17±0.56
63	168.95±20.31	33.72±1.34	18.95±0.72	21.86±0.28	45.34±0.53
70	181.64±20.83	34.72±1.20	19.48±0.61	22.31±0.32	47.15±0.73
77	191.08±19.50	35.27±1.12	19.67±0.55	22.82±0.35	48.21±1.08
84	202.35±20.88	35.87±0.99	20.11±0.42	23.00±0.39	49.69±0.96
91	209.37±20.97	36.12±0.98	20.27±0.54	23.22±0.48	50.29±1.08
98	213.60±19.92	36.48±1.13	20.41±0.56	23.76±0.25	50.45±1.04
105	217.08±23.94	36.57±1.08	20.51±0.61	24.18±0.05	50.62±1.03
112	222.31±23.78	36.71±1.13	20.58±0.67	24.42±0.12	50.78±0.94
119	226.21±22.80	36.92±1.11	20.71±0.65	24.78±0.22	50.96±0.89
126	229.62±24.48	37.10±1.15	20.90±0.62	25.03±0.23	51.12±0.83
133	231.92±22.40	37.32±1.12	21.05±0.60	25.23±0.11	51.27±0.81

La variación porcentual por semana del peso corporal, tanto en hembras como machos, muestra tres momentos en el período estudiado. La tasa promedio mayor se produce en el primer período, antes de la pubertad, la cual se alcanza aproximadamente entre los 40 y 60 días de edad. Las medidas de EL y EAP, a los 21 días, en el inicio del estudio, han alcanzado un porcentaje acumulado del total mayor que las medidas de LT y LNA. Las mayores variaciones porcentuales de EL, EAP, LT y LNA se observan en el período comprendido desde el destete hasta alcanzar la pubertad, siendo menor del 5% semanal a partir de ese momento.

Palabras clave: ratas, crecimiento somático, variables morfométricas.

Otras Áreas | OTA

#### **OTA-06**

# PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS COMO HERRAMIENTAS DE EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO CORPORAL EN RATAS

Cometto, F.<sup>1</sup>; Luyo Vera, L.M.<sup>2</sup>; Madrid Daza, R.A.<sup>2</sup>; Chapo, G.<sup>3</sup>; Alonso, L.<sup>4</sup>; Menoyo, I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Área Instrumental Metodología de la Investigación Científica. <sup>2</sup>Química Biológica. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB). <sup>4</sup>Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Argentina. francocometto11@gmail.com

El objetivo de este trabajo fue estandarizar los procedimientos no invasivos para la medición de parámetros morfométricos que evalúan crecimiento corporal en ratas. Las condiciones especificadas para el mantenimiento de los animales fueron revisadas y aprobadas por el CICUAL de la Facultad de Ciencias Médicas, UNR: Resolución N° 6837/2019. Todas las mediciones fueron realizadas por duplicado y por dos operadores en 4 ratas anestesiadas de la línea *IIMb/Fm*, a los fines de facilitar la manipulación y la obtención de datos. Se realizó la primera medición con la rata en decúbito ventral, utilizando un calibre de 60 cm para las longitudes total (LT, cm), nasoanal (LNA, cm) y de cola (LC, cm) y para los ejes antero-posterior (EAP, mm) y lateral (EL, mm) del cráneo; una cinta de teflón indeformable para las circunferencias torácica (CT, cm) y abdominal (CA, cm). Debido a las discrepancias en las mediciones repetidas, se ajustaron los procedimientos. En la segunda medición, se utilizó una hoja cuadriculada para la alineación del animal, evaluando la LNA y LC con una regla graduada en mm con la rata en decúbito supino. Las medidas del cráneo EAP y EL fueron tomadas con un calibre digital de 15 cm.

		LT	LNA	LC	CT	CA	EAP	EL
Primera medición	Rango de las medias	0.68	0.80	1.68	1.35	1.05	0.52	0.45
	Diferencia media entre operadores	0.47	0.61	0.29	0.36	0.32	0.29	0.15
	Diferencia media por operador	0.73	0.57	0.41	0.39	0.40	0.21	0.23
	Máxima diferencia observada por operador	1.90	1.50	1.10	0.80	0.60	0.40	0.50
Segunda medición	Rango de las medias	1.85	0.70	1.08	0.45	1.45	0.14	0.02
	Diferencia media entre operadores	0.13	0.00	0.03	0.12	0.05	0.08	0.01
	Diferencia media por operador	0.07	0.00	0.03	0.05	0.08	0.10	0.03
	Máxima diferencia observada por operador	0.10	0.00	0.10	0.10	0.20	0.32	0.03

En la primera medición se observaron diferencias consistentes con los valores registrados para todas las variables, tanto entre operadores como para las mediciones repetidas en la misma rata por el mismo operador, siendo estas, en algunos casos, mayores al rango observado. Al ajustar los procedimientos de esta técnica no invasiva, se redujeron considerablemente estas discrepancias, alcanzado una disminución del promedio de las diferencias entre y por operador superior al 70 % en la mayoría de los casos. Palabras clave: ratas, parámetros morfométricos, procedimientos no invasivos.

Otras Áreas | OTA

#### **OTA-07**

# ESTUDIO LONGITUDINAL DE ÍNDICES CORPORALES EN RATAS DE LA LÍNEA IIMb/Fm

Madrid Daza, R.A.<sup>1</sup>; Luyo Vera, L.M.<sup>1</sup>; Cometto, F.<sup>2</sup>; Chapo, G.<sup>3</sup>; Alonso, L.<sup>4</sup>; Menoyo, I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Química Biológica. <sup>2</sup>Área Instrumental Metodología de la Investigación Científica. <sup>3</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB). <sup>4</sup>Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

romario2233@hotmail.com

El objetivo de este trabajo fue relacionar variables morfométricas que evalúan crecimiento corporal a través del cálculo de diferentes índices corporales en ratas de la línea *IIMb/Fm*. Se utilizaron ratas de la línea *IIMb/Fm*, 7 hembras y 10 machos, mantenidas en condiciones controladas y aprobadas por el CICUAL de la Facultad de Ciencias Médicas, UNR: Resolución N°6837/2019. Las variables medidas a partir de los 21 días de edad, cada 7 días, durante 17 semanas: peso corporal (PC, g), longitud total (LT, cm), longitud nasoanal (LNA, cm) se relacionaron a través del cálculo índices corporales. Estos índices tuvieron un comportamiento lineal en dos momentos, antes y después de los 63 días. Se presentan los resultados al inicio, en las semanas cercanas al cambio de pendiente y al final del estudio.

Días	PC/LT	PC/LT2	PC/ <sup>3</sup> √LT	PC/LNA <sup>2</sup>	
21	2.1162±0.1684	0.1203±0.0099	14.3323±1.3984	0.2920±0.0176	Η
28	2.5476±0.2362	0.1184±0.0049	19.7421±2.5824	0.3248±0.0227	Ε
56	4.7392±0.3870	0.1448±0.0087	48.5189±4.8457	0.4494±0.0245	М
63	4.9974±0.4428	0.1480±0.0092	52.2443±5.7141	0.4682±0.0244	В
70	5.2201±0.4546	0.1501±0.0096	55.6320±5.8561	0.4768±0.0285	R
126	6.1803±0.5238	0.1664±0.0114	68.8098±6.8085	0.5240±0.0256	Α
133	6.2059±0.4783	0.1661±0.0107	69.3643±6.2149	0.5217±0.0227	S
21	2.2112±0.1908	0.1301±0.0155	14.7502±1.2426	0.3069±0.0274	
28	2.4017±0.2040	0.1160±0.0033	18.1394±2.2676	0.3112±0.0136	М
56	5.6273±0.3551	0.1665±0.0045	58.8644±5.3327	0.5133±0.0292	Α
63	6.0465±0.4533	0.1682±0.0082	65.8958±6.2741	0.5166±0.0403	С
70	6.4400±0.3787	0.1734±0.0059	71.7197±5.7544	0.5385±0.0245	Н
126	8.2125±0.4463	0.2024±0.0064	97.0133±7.1045	0.6248±0.0238	0
133	8.3185±0.4294	0.2043±0.0061	98.5017±6.9131	0.6298±0.0243	S

Se estimó un modelo lineal mixto para cada índice, teniendo en cuenta sexo y edad: PC/LT:  $0.651904-0.918171*h+0.072907*t-0.057564*ta+0.030325*t*h-0.013633*ta*h, R^2:0.949;$ 

PC/LT<sup>2</sup>: 0.1014-0.01153\*h+0.000784\*t-0.000531\*ta+0.0004765 \*t\*h-0.000206\* ta\* h, R<sup>2</sup>:0.880;

 $PC/^3\sqrt{LT}$ : -6.04978-12.65808\*h+0.97504\*t-0.75184\*ta+0.40750\*t\*h-0.16008\* ta\*h, R<sup>2</sup>: 0.948;

PC/LNA<sup>2</sup>:0.2158-0.04341\*h+0.004273\*t-0.00362\*ta+0.001455\*t\*h-0.0006997 ta\*h, R<sup>2</sup>: 0.923;

h vale 0 si es hembra y 1 si es macho, t es la edad en días y ta es la cantidad de días posteriores a los 63 días de edad y es 0 para edades menores a los 63 días. El modelo planteado resulta adecuado ya que se obtuvo un coeficiente de determinación superior a 0.88 para todas las ecuaciones estimadas. El valor esperado de los índices corporales por edad se puede ajustar a una tendencia lineal en dos momentos, antes y después de los 63 días, momento del desarrollo puberal.

Palabras clave: ratas, índices corporales, crecimiento corporal.

Otras Áreas | OTA

#### 80-ATO

# OPTIMIZACIÓN DE MÉTODOS IN VITRO PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD CITOTÓXICA DE BIOACTIVOS EXTRAÍDOS DE CÁSCARA DE NUEZ PECÁN

Gasser, F.B.<sup>1</sup>; Ribas, L.E.<sup>2</sup>; Renna, M.S.<sup>1</sup>; Marelli, B.<sup>1</sup>; Ortega, H.H.<sup>1</sup>; Van de Velde, F.<sup>2</sup>; Savino, G.H.<sup>2</sup>; Hein, G.J.<sup>1,2</sup>; Baravalle, M.E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVetLitoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Esperanza, Santa Fe, Argentina. <sup>2</sup>Centro Universitario Gálvez, Universidad Nacional del Litoral, Gálvez, Santa Fe, Argentina.

fatima.gasser@icivet.unl.edu.ar

Las pruebas biológicas son necesarias para comprobar la eficacia y seguridad de un nuevo bioactivo y los ensayos in vitro con líneas celulares son ampliamente empleados en estas evaluaciones. Las líneas celulares son utilizadas como métodos alternativos y/o complementarios a la utilización de animales de laboratorio, permitiendo realizar pruebas rápidas y directas, con posibilidad de detección de efectos a largo plazo y con la ventaja de poder controlar las condiciones experimentales. Existen evidencias de que los bioactivos extraídos de la cáscara de nuez pecán presentan actividad citotóxica sobre algunas líneas celulares tumorales. El objetivo del presente trabajo fue optimizar distintos métodos in vitro a partir de cultivos celulares para evaluar la actividad citotóxica de bioactivos extraídos de dos variedades de nuez pecán. Los bioactivos fueron obtenidos mediante extracción acuosa a partir de cáscara de nuez pecán (Carya illinoinensis) de las variedades Marameck y Mahan. La actividad citotóxica y el mecanismo de muerte celular, luego de la exposición de los bioactivos por triplicado sobre cultivos celulares de la línea de adenocarcinoma de colon HT-29, fue determinada a través de la evaluación de viabilidad utilizando MTT y espectrofotometría. También se analizó la inducción de apoptosis mediante el uso del kit Anexina V y citometría de flujo. La actividad genotóxica se realizó mediante la evaluación de la frecuencia de micronúcleos utilizando tinción con DAPI y microscopía de epifluorescencia. Se utilizó doxorrubicina y peróxido de hidrógeno como controles positivos. Se observó que ambos productos poseen actividad citotóxica cuando se los enfrenta a células HT-29 y dicha actividad es dependiente de la concentración de bioactivo utilizado, siendo similar para las dos variedades. Los resultados obtenidos indican que ambos bioactivos utilizan la inducción de apoptosis como mecanismo principal de muerte celular, resultando la variedad Mahan la que induce el mayor el índice de apoptosis (p < 0.05). Respecto a la evaluación de genotoxicidad, como medida del daño al ADN, se observó que los dos bioactivos evaluados poseen actividad genotóxica frente a las células tumorales de colon de manera similar a la que posee doxorrubicina y menor a la actividad del peróxido de hidrógeno (p < 0.05). Los resultados obtenidos a través de estos ensayos permiten disponer de una batería de métodos in vitro para la evaluación inicial de distintos bioproductos o fármacos. Por otro lado, los resultados generados permiten considerar a los bioactivos obtenidos de cáscara de nuez pecán, como productos de interés y una alternativa potencial al tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

Palabras clave: in vitro, bioactivos de cáscara de nuez pecán, citotoxicidad.

#### **OTA-09**

# LOS MACHOS DE LA CEPA BALB/c, QUE MONTAN A CRIAS LACTANTES DE 15 A 18 DIAS DE EDAD

Cabeza Pérez, G.; González Trujillo, S.

Instituto de Biotecnología - UNAM. México. gcabeza@ibt.unam.mx

En las unidades reproductoras de ratones endogámicos de la cepa BALB/c se detecta la presencia de tapón de cruza en las crías lactantes de 15 a 18 días de edad, que les ocasionan desgarre de ano o vagina, obstrucción uretra y recto. Las unidades reproductoras se encuentran en un sistema de barrera con control de medio ambiente, equipo, alimento y agua esterilizada. Las condiciones medio ambientales están dentro los parámetros establecidos por la norma oficial Mexicano NOM ZOO-062. El pie de cría se obtuvo de una

76

#### Otras Áreas | OTA

casa comercial, con certificado de salud libres de patógenos específicos. Al comenzar los nacimientos de crías, se detectó en algunas crías lactantes tapón de monta y lesiones en la región ano valvar en las hembras y anal en las crías machos, en un 60% de las unidades reproductivas. Esta conducta de los machos se repitió en las unidades de remplazo, de las siguientes generaciones, el porcentaje de machos que montaban a las crías fue variando. El sistema de reproducción es monogámico intensivo. Se colocaron tubos de PVC en las cajas reproductoras de media pulgada y una pulgada para que las crías se escondieran dentro de ellos cuando el macho intentara montarlos, esto disminuyó la presencia de tapones de monta en las crías en un 80%. En la generación F2 se repitió la conducta de monta a las crías, se realizó una selección de los machos de remplazo para la siguiente generación, solo se utilizó los hijos de machos que no montaban crías, en la generación F3 y F4 no hubo presencia de tapones de monta en las crías lactantes, pero en la generación F5 se presentó nuevamente en un 50% de las unidades. Se incrementó al uso de tubos de PVC y la selección de machos, el enriquecimiento ambiental con tubos de cartón, hojas de maíz secas, algodón y papel cortado, esto disminuyó en un 100% la conducta de los machos, pero en la generación F9 se presentó nuevamente. Se cambió el pie de cría, esta conducta se repitió en los machos en un 66% de las unidades reproductoras en la generación de fundación F1. Se ha continuado con el enriquecimiento ambiental y la colocación de tubos de PVC, pero aún se repite esta conducta en un porcentaje muy bajo en la colonia. Palabras clave: monta, tapón, crías

#### **OTA-10**

# RECONVERSIÓN Y REUTILIZACIÓN DE CAJAS DE ALOJAMIENTO DE POLISULFONATO PARA ESTABLECER UN PROGRAMA DE ENRIQUECIMIENTO AMBIENTAL DE RATONES

Martínez, M.<sup>1</sup>; Díaz, G.<sup>2</sup>; Miguel. E.; Grimaldo, L.<sup>3</sup>; García, J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Modelos Biológicos, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Área de Producción de la UMB-IIB, UNAM. <sup>2</sup>Unidad de Modelos Biológicos, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Área de experimentación de la UMB-IIB, UNAM

<sup>3</sup>Departamento de Biología Celular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. México.

pantheraleomx@yahoo.com.mx

Los bioterios no están exentos de producir una gran cantidad de desechos no biodegradables provenientes de cajas de alojamiento, comederos y bebederos de los animales de laboratorio. La composición química de estos insumos, es principalmente el polisulfonato; un polímero con alta resistencia térmica, mecánica y a la oxidación. Sin embargo, estas mismas propiedades hacen su proceso de degradación un fracaso, siendo el reciclaje y reutilización la forma de tratar los residuos de polisulfonato una medida para reducir la contaminación ambiental. En años recientes se conoce que el enriquecimiento ambiental tiene un impacto positivo en la conducta y fisiología de los animales de laboratorio; no obstante, la implementación de programas de enriquecimiento ambiental ha sido lenta ya que implica destinar recursos económicos adicionales. Normalmente, el enriquecimiento ambiental de tipo físico que se implementa en los bioterios incluye objetos que los animales pueden alterar o modificar como tubos, cajas de cartón, etc., ya que son de fáciles de adquirir y costear; sin embargo, los objetos fabricados de termoplásticos como el policarbonato y el polisulfonato son de un costo más elevado. Tratando ambas problemáticas proponemos un proceso de reutilización de material de desecho de polisulfonato proveniente del bioterio, para formar estructuras de enriquecimiento ambiental de tipo nido/refugio para los animales de laboratorio, las cuales se pueden lavar, desinfectar y esterilizar sin sufrir cambios.

Palabras clave: enriquecimiento, reutilización, comportamiento.

Otras Áreas | OTA

#### **OTA-11**

BACTERIAS FORMADORAS DE CÁLCULOS RENALES EN VEJIGA URINARIA EN TRANSGÉNICOSY CEPAS COMERCIALES DEL BIOTERIO. **ENCONTRADOS AL REALIZAR LA NECROPSIA** 

Cabeza Pérez, G.<sup>2</sup>; Contreras Figueroa, E.<sup>1</sup>; González Trujillo, S.<sup>2</sup>; Mata

Instituto Nacional de Rehabilitación LGII, S.P. Instituto de Biotecnología UNAM, México graciela.cabeza@ibt.unam.mx

Al realizar las necropsias de rutina de los ratones de fin de ciclo reproductivo o experimental, se encontró la presencia de cálculos renales en 224 ratones transgénicos y 182 ratones de la cepa C57BL/6, BALB/c, FVB y CD1 de un total de 3000 ratones revisados. Al realizar los análisis se determinó que eran de oxalatos de calcio en su mayoría y algunos de trifosfatos, el bioterio tiene condiciones medio ambientales controladas, temperatura 22°C +/- 2, Humedad relativa 50% +/- 10%,12/12 horas luz, se les proporciona alimento autoclavado comercial, agua ozonizada y equipo esterilizado. Al realizar análisis de PCR en heces fecales de estos ratones y de los ratones centinelas de las colonias se detectó la presencia de cinco bacterias, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonía, Klebsiella pneumonía y Pseudomonas spp en las colonias de ratones. De las 38 líneas de ratones transgénicas en 22 se detectó la presencia de cálculos renales, en las 22 líneas se detectó E. coli, en 4 S. aureus, en 12 S. pneumoniae, 3 K. pneumoniae y 7 Pseudomonas spp. En las colonias reproductoras de las cepas C57BL/l6, BALB/c, FVB y CD1, en todas hubo S. aureus, en 3 E. coli y K. pneumoniae, en 2 S. pneuminia y Pseusomonas spp. Hay reportes que todas estas bacterias de forma individual o en conjunto son formadoras de cálculos renales. En el caso de las colonias reproductoras de cepas comerciales se cambió el pie de cría por uno de alta barrera, libre de estas bacterias y en las colonias de ratones transgénicos se procedió a dar tratamiento contra las bacterias y en algunos casos transferencia de embriones para limpiar las colonias. Palabras clave: cálculos, ratón, bacterias

#### **OTA-12**

#### RELEVAMIENTO DE SALUD ANIMAL EN BIOTERIOS DE RATAS Y RATONES DE LABORATORIO DE ARGENTINA

Laborde, J.M.; Carriquiriborde, M.; Cagliada, P.; Maschi, F.; Almirón, J.; Ayala,

Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. juanmartinlaborde@gmail.com

En los últimos diez años la comunidad científica usuarios de modelos animales destinados a investigación y ensayos se ha concientizado progresivamente sobre la importancia que tiene la calidad animal, su impacto en los resultados y especialmente en el bienestar de los mismos. La implementación de técnicas moleculares (PCR) junto con otros ensayos complementarios ha permitido mejoras en la estandarización sanitaria. Argentina cuenta con laboratorios especializados para realizar el control sanitario de pequeños roedores de laboratorio de acuerdo con la lista de microorganismos recomendados por FELASA. Los controles sanitarios que, desde hace décadas, se realizan en el Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE) han permitido detectar la presencia y prevalencia de los agentes infecciosos que representan un grave problema en colonias de animales de laboratorio. A partir de los resultados obtenidos en 500 animales provenientes de 50 instituciones y en un período de 5 años, fue posible establecer la presencia de las infecciones más comunes en los bioterios del país. Las bacterias más frecuentes aisladas en ratones y ratas fueron Pseudomonas aeruginosa, Helicobacter spp, Mycoplasma pulmonis, Pasteurella pneumotropica, Corynebacterium bovis, Bordetella bronchiseptica y Proteus spp. Los parásitos más comúnmente identificados fueron Syphacia spp. y Trichomonas spp. Los ensayos por PCR demostraron la mayor prevalencia de Norovirus, Virus de Hepatitis Ratón, virus de Sialodacrioadenitis, virus de la Encefalomielitis de Theiler, Parvovirus del ratón, virus de la Pneumonia y Astrovirus. Los resultados indican que las

#### Otras Áreas | OTA

infecciones por estos agentes continúan siendo un problema y están circulando en las instalaciones de animales de laboratorio convencionales de Argentina y por lo tanto, controles sensibles y específicos se deben desarrollar de forma continua. Con estas técnicas, la vigilancia de las colonias de roedores de laboratorio en Argentina, podría aumentarse mediante el uso de un programa centinela para conocer el estado de salud real, y contribuir a prevenir la transmisión entre instalaciones de los animales, para minimizar su interferencia en los estudios de investigación. Este trabajo fue supervisado y aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, bajo el código Nº 59-1-16T.

Palabras clave: control sanitario, microorganismos, animales de laboratorio

#### **OTA-13**

# ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE REDERIVACIÓN POR HISTERECTOMÍA PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CONDICIÓN SANITARIA DE UNA CEPA DE ROEDORES

#### Maidágan, P.M.<sup>1</sup>; González, F.<sup>1</sup>; Chapo, G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Producción de Reactivos Biológicos (CIPReB). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina. pmaidagan.cipreb@gmail.com

Los animales de laboratorio utilizados en la actualidad como modelos experimentales en ciencia biológica y biomédica constituyen un componente fundamental de las mismas, siendo necesario avanzar en su estandarización y donde la mejora y el control periódico del estatus microbiológico del animal juegan un rol preponderante de acuerdo a los estándares vigentes para su correcta utilización. Animales de tipo convencional pueden presentar infecciones subclínicas, lo que puede interferir en la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos. El objetivo del presente trabajo fue mejorar la condición sanitaria de una cepa de ratones (Mus musculus) C3H/HeN, para el establecimiento de una colonia de cría (evaluación CICUAL Facultad de Ciencias Médicas al proyecto "Adquisición de la Técnica de Rederivación Quirúrgica por Histerectomía en roedores para la obtención de animales de condición sanitaria SPF"). Para esto se emplearon dos cepas diferentes de ratones, una de condición sanitaria SPF (C57BL/6), cuyas hembras fueron empleadas como nodrizas (receptoras) de las crías de la cepa a rederivar (C3H/HeN, dadoras), de condición sanitaria convencional. En una primera instancia, se sincronizaron las preñeces de dadoras y receptoras para que las fechas probables de parición (FPP) se encuentren desfasadas un mínimo de 24h y un máximo de 72h, siendo condición necesaria que la hembra nodriza sea la primera en parir. Para ello se armaron 3 planteles de cada cepa de 1 macho con 3 hembras durante 4 días y la cópula fue controlada diariamente. Las hembras positivas fueron aisladas. Una vez parida la hembra nodriza, se procedió a realizar la histerectomía en condiciones asépticas a una hembra dadora a término (con 24h de anticipación a la FPP) para obtener crías libres de patógenos. La hembra C3H/HeN fue sacrificada por dislocación cervical, posteriormente sumergida en una solución desinfectante e incidida por la línea media para la extracción del útero grávido, dentro de una cabina de bioseguridad y empleando material quirúrgico estéril. El útero fue colocado en un recipiente estéril conteniendo también una solución desinfectante e ingresado al área limpia. Dentro de una nueva cabina de bioseguridad y empleando también material de cirugía estéril, se procedió a incidir el útero y extraer las crías, sobre una platina de calentamiento recubierta con gasa estéril, manteniendo la temperatura de las crías entre 37°-38° C. Una vez reanimadas las crías, las mismas fueron ubicadas con la madre nodriza y se controló su adopción durante las 24-48 h posteriores. Se realizaron controles microbiológicos previos y posteriores al procedimiento realizado y se pudo concluir que la rederivación por histerectomía permitió reducir la carga microbiana de la cepa C3H/HeN y el establecimiento de una colonia de dicha cepa de un estatus microbiológico superior.

Política, Legislación y Regulaciones | PLR

#### PLR-01

PROPUESTAS DE ACTUALIZACION A LA NORMA OFICIAL MEXICANA 062-ZOO-1999, ESPECIFICACIONES TÉCNICAS PARA REPRODUCCIÓN, CUIDADO Y USO DE ANIMALES DE LABORATORIO

Streber, M.L.; Dávila, T.; García, E.; Haro, A.; Ladrón de Guevara, L.; Malagón, H. Ramírez, M.; Solano, G.

Comité No.6 Salud y Producción de Animales de Laboratorio y Especies Menores, Consejo Técnico Consultivo Nacional de Sanidad Animal (CONASA). México. mstreberj@gmail.com

La presente Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional (México) y tiene por objeto establecer y uniformar las especificaciones técnicas para la reproducción, cuidado y uso de los animales de laboratorio que deben cumplir las personas físicas o morales relacionadas en todos los campos con este tipo de animales. Se publicó en el Diario Oficial de la Federación (DOF) el 22 agosto 2001 y para 2021, ya tiene 20 años; por lo que al comité No.6 se le encomendó la tarea de revisar las propuestas para su actualización. Se añadieron nuevas definiciones, incluidos conceptos claves como bienestar animal, métodos alternativos, las 3 R's, etc. Para la gestión y organización se añadió que se debe contar con manuales de administración, de políticas y de procedimientos operacionales estandarizados (SOP), revisados, autorizados y vigentes. Se incluyó que se sigan las recomendaciones según la guía de ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) Investigación animal: informes de experimentos in vivo del 2019 para la investigación animal. Cada bioterio debe de contar con estructura organizacional, presupuesto suficiente e instalaciones adecuadas que le permitan mantener la capacidad de ejecutar satisfactoriamente las funciones técnicas para las cuales está autorizado. Se incluyó la figura de Médicos Veterinarios Responsables Autorizados, ante SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria) y SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). Se actualizaron las funciones y actividades para el personal técnico y profesional (auxiliar de técnico de bioterio, técnico de bioterio, personal profesional y Médico Veterinario Zootecnista certificado en animales de laboratorio). Congruencia con otras normas: NOM-064-ZOO-2000, Lineamientos para la clasificación y prescripción de productos farmacéuticos veterinarios por el nivel de riesgo de sus ingredientes activos. Cada bioterio debe de contar con recetario médico cuantificado.

NOM- 087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-Salud ambiental- Residuos peligrosos biológico-infecciosos- Clasificación y especificaciones de manejo. Es la versión más actualizada. Animales que comprende esta Norma: 1. Roedores: Rata, ratón, cobayo, hámster y jerbos, 2. Lagomorfos, 3. Ovinos y caprinos, 4. Primates no humanos, 5. Porcinos, 6. Otras especies.

Todavía no sale publicada la última versión.

Palabras clave: legislación, normatividad, animales de laboratorio.





### 27-28-29 OCTUBRE ▶ VIRTUAL

II REUNIÓN CIENTÍFICA INTERNACIONAL VII REUNIÓN CIENTÍFICA REGIONAL VI CONGRESO NACIONAL DE

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ANIMALES DE LABORATORIO



