



Efectes de la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques sobre la resposta immunitària en un model d'inflamació pulmonar aguda en ratolí

Mònica Maijó Ferré

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Grup de Fisiologia Digestiva i Adaptacions Nutricionals
Departament de Fisiologia
Facultat de Farmàcia
Institut de Nutrició i Seguretat Alimentària de la UB

**EFFECTES DE LA SUPLEMENTACIÓ DIETÈTICA AMB
PROTEÏNES PLASMÀTIQUES SOBRE LA RESPOSTA
IMMUNITÀRIA EN UN MODEL D'INFLAMACIÓ PULMONAR
AGUDA EN RATOLÍ**

Programa de Doctorat: **Biotecnologia Molecular**

Directors:

Dra. Anna Pérez Bosque
Professora associada de Fisiologia

Dr. Miquel Moretó Pedragosa
Catedràtic de Fisiologia

Dr. Javier Polo Pozo
Responsable I+D, APC Europe SA

Mònica Maijó Ferré
Barcelona 2011



UNIVERSITAT DE BARCELONA



Departament de Fisiologia

Facultat de Farmàcia
Edifici B, 3^a planta
Av. Joan XXIII, s/n
E-08028 Barcelona

Na ANNA PÉREZ BOSQUE, professora associada de Fisiologia, en MIQUEL MORETÓ PEDRAGOSA, Catedràtic de Fisiologia, ambdós del Departament de Fisiologia (Farmàcia) de la Universitat de Barcelona i en JAVIER POLO POZO, responsable de I + D de l'empresa APC Europe S.A. a Granollers (Barcelona),

INFORMEN:

Que la memòria titulada "Efectes de la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques sobre la resposta immunitària en un model d'inflamació pulmonar aguda en ratolí" presentada per MÒNICA MAIJÓ FERRÉ per optar al grau de Doctor per la Universitat de Barcelona ha estat realitzada sota la nostra direcció al Departament de Fisiologia (Farmàcia) i, considerant-la concloua, autoritzen la seva presentació per ser jutjada pel tribunal corresponent.

I per què així consti, signem la present a Barcelona, el dia 25 d'Octubre del 2011.

Dra. Anna Pérez Bosque

Dr. Miquel Moretó Pedragosa

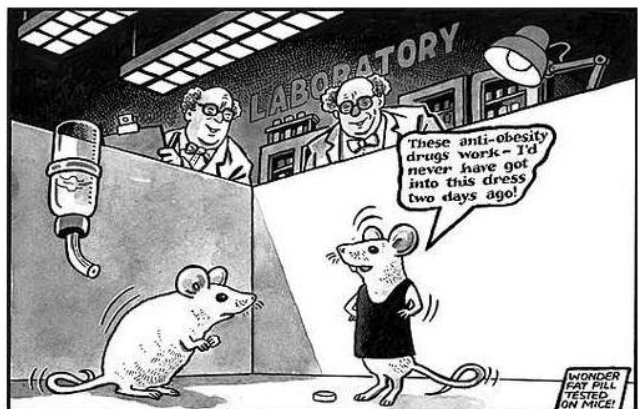
Dr. Javier Polo Pozo

Aquesta tesi ha estat subvencionada pel projecte *“Immunoglobulin concentrates: traditional compounds with funcional application in healthy feed and food products”*. Empresa finançadora: APC Europe S.A., Granollers (Barcelona). Projecte gestionat per la Fundació Bosch i Gimpera de la Universitat de Barcelona, ref. FBG-304372 (Període 2007-2009). El grup forma part del grup consolidat Fisiologia i Nutrició Experimental (2009SGR0471; Generalitat de Catalunya). L'assistència a congressos ha estat subvencionada amb borses de viatge concedides per la Comissió de Recerca de la Facultat de Farmàcia. Durant la seva realització, l'autora ha gaudit d'una beca de Col·laboració en projectes d'investigació de la Universitat de Barcelona, associada a projectes de recerca (Període 2007-2011).

*A tu per dedicar una part del teu
temps a llegir la meva tesi.*

A la meva iaia.

Tan de bo tot fos tan fàcil....



Voldria agrair a totes les persones que durant aquesta tesi doctoral han col·laborat d'alguna manera en la seva realització.

Al meus directors de tesi, el Dr. Moretó, per donar-me l'oportunitat de realitzar la tesi en el seu grup de recerca, pel tracte afable, per la seva paciència i dedicació al meu treball. A la Dra. Pérez per tot el que m'ha ensenyat, per totes les hores compartides al seu costat, per la seva paciència i dedicació. La vostra ensenyança m'ha fet créixer com a investigadora i persona. Al Dr. Polo per donar-me l'oportunitat de treballar en el seu projecte.

A la Dra. Planas i la Dra. Juan per ser les meves iniciadores en aquest món. Gràcies per donar-me l'oportunitat de treballar en la investigació durant els anys que vaig estar amb vosaltres, i en aquests últims per seguir confiant en mi, per la vostra ajuda i consells durant tots aquests anys. A més, a la Dra. Juan per ser la meua companya de despatx durant molt temps i per totes les hores que hem passat dinant i xerrant de temes de feina i de la vida diària.

A la Dra. Amat per la tranquil·litat que transmet, la seva simpatia i els seus consells.

A les "compis" de la tesi, Lluïsa Miró i Irene Alfaras, hem passat tots aquest anys compartint hores i més hores al departament, la vostra ajuda i suport ha estat indispensable. Els experiments fins les mil, anècdotes varies amb els ratolins, sessions de cine de les nostres, i molts bons moments passats. Gràcies per la vostra amistat. Crec que heu après les nocions bàsiques de Batea per parlar amb la meua família el dia de la presentació!!

A la Gloria Lozano i a la Marta Sánchez, per les seves xerrades dinant, explicant les notícies bones i dolentes dels seus experiments. Al final les coses acaben sortint! A la Cris i a la Pati, por vuestra compañía durante los meses de estancia aquí.

Als estudiants que han passat per aquí durant aquests anys: la Marta Cuenca, la Marina Kurylenko, el Tomeu Fernández, la Mireia Colomer, l'Anna Mensa, tots heu contribuït en alguna part de la meua tesi i ha estat un plaer tenir-vos al meu costat.

A tots els companys del Departament de Fisiologia per haver-me acollit, ajudat i aconsellat durant la realització d'aquest treball.

Al Jaume Comas i al Ricard Álvarez del Servei de Citometria del Parc Científic, per la seva ajuda i amabilitat durant les hores passades al costat del Citòmetre.

A la Tere Rodrigo, la Marta, el David, la Paula, la Cristina... de l'Estabulari de Farmàcia, per tota l'ajuda amb els ratolins, i donar-me les màximes facilitats perquè pogués treballar còmodament.

A les meves amigues del poble, les que des de que tinc consciència us conec: Helena, Assun, Gemma, Mar, Tresa, ho sabeu tot de mi i en aquests anys sempre us he tingut al costat, compartint tots els moments, tos estimo moltíssim!!! i les que fa una mica menos però meu seguit en aquests anys de tesi: Cinta, Mireia, Monte M., Estela, Eva, per que sou les xiques de la colla, i als nois Antonio "macot", Toni P., Richi, Xat, Virets, Alfonso, Miquel LL., Kai, Joan R... ui que no me dixa a ningú!! Per tots els bons moments, trobades, calçotades, festes, bodes!! Per tenir la millor colla del món i passar tants bons moments junts!! Se xale molt en vafres!!!

Als amics de "Barna" (bé o que viuen a Barcelona): els tortosins, els amics del poble establerts a Barna, l'Anita Gómez, l'Andreu...per que he compartit molts bons moments (i unes quantes festes) amb tots vosaltres, i espero que en vinguin moltes més!! A la Xisara la japonesa més guapa i divertida.

A les meves amigues de la uni: les mallorquines: Ana Gómez, Rosa Llull, Rosa Ruíz, Alma i el José (ja ets mig mallorquí!!) per que tinc el cor robat entre Catalunya i Mallorca i us trobo molt a faltar, gràcies per ser les meues amigues, per recolza'm, ajuda'm i perquè heu estat amb mi durant tots estos anys! També a la Roser la meua compatriota tarragonina, i les gironines que encara que ens veiem poc sempre trobem alguna data per passar algun bon moment juntes. A la Rousi "Doctora CumLaude", la de Torrefarrera hem compartit els anys de doctorat amb els nostres ratolins i anècdotes!!

A les farmacèutiques de Can Batlló, la Yolanda, la Pili, l'Úrsula i la Irene, per que des de que vaig deixar la farmàcia per la universitat, heu estat al meu costat, treballant i seguint tot el que feia.

A la meua "compi de pis" preferida, la Irene Fernández. Has viscut els dos darreres anys de tesi amb mi, amb les meues penes i alegries, però vivint amb tu tot ha estat molt més fàcil, i també gràcies a totes les persones que t'envolten: Ignasi, Eli, els teus pares,.. sou com una família per mi.

I per acabar m'agradaria agrair a la meua família el seu suport i paciència en aquests anys:

Als meus tiets de Barcelona, perquè durant aquests onze anys que fa que visc a Barcelona m'heu cuidat, alimentat i estimat com una filla. Al meu cosí Josep M^a i la Roser, per tenir un nen tan guapo, que com aquell que diu te l'edat d'una tesi, heu viscut i compartit aquests anys amb mi, segur que heu après molt de ratolins!! A la Mercè i les peques de la casa (Mireia i Marta), les meues nebodetes preferides.

Al meu pare per sempre trobar un moment per passar amb mi. Als cosins i nebots del poble i Tarragona.

A les meues cosines Elisa i Mercè. Per ser com unes germanes grans, pels consells i perquè durant la meua tesi meu fet molt feliç amb bodes, naixements (el petit i simpàtic Abel), i la vostra companyia!! A la meua padrina, per ajudar-me sempre en tot, i a la meua iaia.

A la meua mare perquè sense tu no hauria arribat on sóc ara, pel teu suport incondicional, per la teua força per treballar i tirar endavant, t'ho dec tot. A la meua germana i futura doctora, per ser la meua font d'inspiració, guiar-me durant tota la vida i ser a més una amiga. Perquè us estimo molt, aquesta tesi també es vostra.

ÍNDEX



ÍNDIX	I
ÍNDIX DE FIGURES.....	IV
ÍNDIX DE TAULES	VI
ABREVIATURES.....	VII
RESUM DE LA TESI.....	IX
I. INTRODUCCIÓ	1
1. Sistema respiratori	1
1.1. Fisiologia i anatomia pulmonar	1
1.1.1. Estructura pulmonar.....	1
1.1.2. Funcions dels pulmons, bronquis i alvèols	2
2. Teixit limfoide associat a les mucoses	2
2.1. Sistema immunitari pulmonar	4
2.1.1. Teixit limfoide associat als bronquis	5
2.1.2. Teixit limfoide associat nasal	6
2.1.3. Resposta immunitària del BALT i el NALT	6
3. Sistema immunitari perifèric	7
3.1. Immunitat innata	8
3.2. Immunitat adaptativa.....	11
3.2.1. Immunitat humoral.....	12
3.2.2. Immunitat cel·lular.....	13
4. Inflamació pulmonar	17
4.1. Models animals d'inflamació pulmonar.....	17
4.2. Resposta immunitària a una inflamació pulmonar	19
4.3. Lipopolisacàrid	21
5. Dieta i salut animal	23
5.1. Malalties respiratòries associades al deslletament de porcs.....	23
5.2. Alternatives a l'ús d'antibiòtics	24
5.3. Suplementació dietètica amb concentrat de proteïnes plasmàtiques	26
II. PLANTEJAMENT I OBJECTIUS	29
III. RESULTATS.....	31

CAPÍTOL 1. Posta a punt d'un model d'inflamació pulmonar aguda en ratolí mitjançant l'administració de lipopolisacàrid..... 33

1.1. Introducció	35
1.2. Material i mètodes	36
1.2.1. Animals d'experimentació	36
1.2.2. Inflamació pulmonar	36
1.2.3. Disseny experimental	37
1.2.4. Obtenció dels leucòcits de l'espai broncoalveolar	38
1.2.5. Obtenció dels leucòcits pulmonars	38
1.2.6. Obtenció dels leucòcits sanguinis.....	38
1.2.7. Viabilitat i recompte cel·lular	39
1.2.8. Marcatge fenotípic dels leucòcits per immunofluorescència	39
1.2.9. Anàlisi de les poblacions leucocítiques	40
1.2.10. Determinació de proteïnes.....	41
1.2.11. Anàlisi estadístic.....	41
1.3. Resultats	41
1.3.1. Pes dels animals.....	41
1.3.2. Proteïnes i recompte cel·lular al BALF	42
1.3.3. Poblacions cel·lulars al BALF.....	43
1.3.4. Poblacions cel·lulars a pulmó	45
1.3.5. Poblacions cel·lulars a sang	47
1.4. Conclusions.....	50

CAPÍTOL 2. Estudi de l'efecte de la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques sobre la immunitat innata en animals sotmesos a una inflamació pulmonar aguda..... 51

2.1. Resum de l'Article 1.....	53
Publicació 1. <i>Dietary plasma proteins attenuate the innate immunity response in a mouse model of acute lung injury</i>	55
2.2. Resultats annexes a l'Article 1.....	65
2.2.1. Variables metabòliques	65
2.2.2. Proteïnes al BALF	66
2.2.3. Pes del pulmó i infiltració de leucòcits a pulmó	67
2.2.4. Perfil leucocitari a sang.....	68
2.2.5. Expressió de quimiocines al BALF.....	68

CAPÍTOL 3 Estudi de l'efecte de la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques sobre la immunitat adaptativa i reguladora en animals sotmesos a una inflamació pulmonar aguda.....	71
3.1. Resum de l'Article 2	73
Publicació 2. <i>Dietary plasma proteins modulate the adaptive immune response in a mouse model of acute lung inflammation</i>	75
3.2. Resultats annexes a l'Article 2.....	83
3.2.1. Estudi de les poblacions cel·lulars a pulmó i sang.....	83
3.2.2. Limfòcits T supressors/citotòxics a pulmó	83
3.2.3. Limfòcits B a pulmó	84
3.2.4. Limfòcits T supressors/citotòxics a sang	84
3.2.5. Limfòcits B a sang	85
3.2.6. Expressió de citocines al BALF	85
IV. DISCUSSIÓ.....	87
V. CONCLUSIONS.....	101
VI. BIBLIOGRAFIA	103

ÍNDEX DE FIGURES

Figura I-1.	Estructura del sistema respiratori	1
Figura I-2.	Sistema immunitari mucosal comú	2
Figura I-3.	Esquema del sistema immunitari mucosal comú	4
Figura I-4.	Organització del BALT murí.....	6
Figura I-5.	Esquema de les cèl·lules implicades en la resposta adaptativa humoral i cel·lular.	12
Figura I-6.	Imatge microscòpica d'un limfòcit B	13
Figura I-7.	Imatge microscòpica d'un limfòcit T.....	14
Figura I-8.	Possible mecanisme amb els qual les cèl·lules Treg supprimeixen la inflamació en la LPA	20
Figura I-9.	Estructura de l'LPS	21
Figura I-10.	Accions fisiològiques de l'LPS	22
Figura III-1	Disseny experimental.....	37
Figura III-2	Citograma d'una suspensió cel·lular.....	40
Figura III-3.	Evolució del pes corporal dels ratolins	42
Figura III-4.	Variació de pes dels ratolins des de la inoculació del PBS/LPS fins al sacrifici 24 h després.....	42
Figura III-5.	Concentració de proteïnes al BALF	43
Figura III-6.	Recompte de cèl·lules al BALF	43
Figura III-7.	Percentatge de monòcits i neutròfils activats al BALF.....	43
Figura III-8.	Percentatge de limfòcits Th al BALF	44
Figura III-9.	Percentatge de limfòcits Th activats al BALF	44
Figura III-10.	Percentatge de limfòcits T supressors/citotòxics al BALF	45
Figura III-11.	Recompte de cèl·lules a pulmó.....	45
Figura III-12.	Percentatge de monòcits i neutròfils activats a pulmó	46
Figura III-13.	Percentatge de limfòcits Th a pulmó	46
Figura III-14.	Percentatge de limfòcits Th activats a pulmó.....	47
Figura III-15.	Percentatge de limfòcits T supressors/citotòxics a pulmó.....	47
Figura III-16.	Recompte de cèl·lules a sang.....	48
Figura III-17.	Percentatge de monòcits i neutròfils activats a sang	48
Figura III-18.	Percentatge de limfòcits Th a sang.....	49
Figura III-19.	Percentatge de limfòcits Th activats a sang.....	49
Figura III-20.	Percentatge de limfòcits T supressors/citotòxics a sang	49

Figura III-21.	Evolució del pes corporal dels ratolins sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	65
Figura III-22.	Increment de pes dels ratolins sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	66
Figura III-23.	Evolució del consum de pinso dels ratolins sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	66
Figura III-24.	Concentració de proteïnes al BALF d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	67
Figura III-25.	Pes del pulmó d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	67
Figura III-26.	Infiltració leucocitària a pulmó d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	68
Figura III-27.	Percentatge de limfòcits i leucòcits no limfocítics a sang d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	68
Figura III-28.	Limfòcits T supressors/citotòxics a pulmó d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	83
Figura III-29.	Limfòcits B a pulmó d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	84
Figura III-30.	Limfòcits T supressors/citotòxics a sang d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	84
Figura III-31.	Limfòcits B a sang d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	85

ÍNDEX DE TAULES

Taula I-1.	Models animals d'inflamació pulmonar	18
Taula III-1.	Anticossos emprats en el marcatge directe de les poblacions leucocitàries	40
Taula III-2.	Concentració de CCL5 i CCL11 a BALF d'animals exposats a LPS i sotmesos a una suplementació dietètica amb SDP o amb IC.....	69
Taula III-3.	Anticossos emprats en el marcatge directe de les poblacions leucocitàries	83
Taula III-4.	Concentració de les citocines: IL-2, IL-4, IL-5, IL-12p70, IL-13, IL-17 i IFN- γ al BALF 24 h després de l'administració de LPS	86

ABREVIATURES

AO	<i>Acridine Orange</i> ; Taronja d'acridina
APCs	<i>Antigen Presenting Cells</i> ; Cèl·lules presentadores d'antigen
BALF	<i>Bronchoalveolar Lavage Fluid</i> ; Líquid del rentat broncoalveolar
BALT	<i>Bronchus-Alveolar Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat als bronquis i alvèols
CMIS	<i>Common-Mucosal Immune System</i> ; Sistema immunitari mucosal comú
DCs	<i>Dendritic Cells</i> ; Cèl·lules dendrítiques
EBr	<i>Ethidium Bromide</i> ; Bromur d'etidi
FAE	<i>Follicle-Associated Epithelium</i> ; Epiteli associat al fol·licle
FDCs	<i>Follicular Dendritic Cells</i> ; Cèl·lules dendrítiques fol·liculars
GALT	<i>Gut-Associated Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat a l'intestí
G-CSF	<i>Granulocyte Colony-Stimulating Factor</i> ; Factor estimulador de colònies de granulòcits
GM-CSF	<i>Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor</i> ; Factor estimulador de colònies de granulòcits i macròfags
HEVs	<i>High Endothelial Venules</i> ; Vènules endotelials altes
IC	<i>Immunoglobulin Concentrate</i> ; Concentrat d'immunoglobulines
IFN-γ	<i>Interferon-γ</i> ; Interferó- γ
Ig	Immunoglobulina
IL	Interleucina
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i> ; Òxid nítric sintasa induïble
KC	<i>Keratinocyte-derived Chemokine</i> ; Quimiocina derivada dels queratinocits. CXCL1
LPA	Lesió pulmonar aguda
LPS	Lipopolisacàrid
MALT	<i>Mucosa-Associated Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat a les mucoses
MCP-1	<i>Monocyte Chemotactic Protein-1</i> ; Proteïna quimiotàctica de monòcits-1. CCL2
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i> ; Complex major d'histocompatibilitat
MIP-1α	<i>Macrophage Inflammatory Protein-1α</i> ; Proteïna dels macròfags inflamatoris-1 α . CCL3
MIP-1β	<i>Macrophage Inflammatory Protein-1β</i> ; Proteïna dels macròfags inflamatoris-1 β . CCL4

MIP-2	<i>Macrophage Inflammatory Protein-2α</i> ; Proteïna dels macròfags inflamatoris-2 α . CXCL2
MPOC	Malaltia pulmonar obstructiva crònica
NALT	<i>Nasal-Associated Lymphoid Tissue</i> ; Teixit limfoide associat nasal
NK	<i>Natural Killer Cells</i> ; Cèl·lules assassines naturals
NO	<i>Nitric Oxide</i> ; Òxid nítric
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i> ; Tampó fosfat salí
PCV-2	<i>Porcine Circovirus</i> , Circovirus porcí
PMN	<i>Polymorphonuclear Neutrophils</i> ; Neutròfils polimorfonuclears
PMWS	<i>Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome</i> ; Síndrome multisistèmic de desmedro post-deslletament
PPs	Plaques de peyer
PRCV	<i>Porcine Respiratory Corona Virus</i> ; Coronavirus respiratori porcí
PRRS	<i>Porcine Respiratory Reproductive Syndrome</i> ; Síndrome respiratori i reproductiu porcí
RANTES	<i>Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted</i> ; Factor d'expressió i secreció regulador de cèl·lules T. CCL5
SDP	<i>Spray-Dried Plasma</i> ; Plasma assecat per polvortització
SDRA	Síndrome de dificultat respiratòria aguda
SEB	<i>Staphylococcus aureus Enterotoxin B</i> ; Enterotoxina B d' <i>Staphylococcus aureus</i>
SIDA	Síndrome d'immunodeficiència adquirida
Ts/c	Limfòcit T supressor/citotòxic
TCR	<i>T Cell Receptor</i> ; Receptor de les cèl·lules T
TGF-β	<i>Transforming Growth Factor-beta</i> ; Factor de creixement transformant- β
Th	Limfòcit T helper
TNF-α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i> ; Factor de necrosis tumoral- α
Treg	Limfòcit T regulador

RESUM DE LA TESI

El concentrat de plasma assecat per polvorització (SDP) i el d'immunoglobulines (IC) són suplementos dietètics que han estat àmpliament utilitzats en l'alimentació dels animals de granja i que han estat proposats com alternativa a l'ús dels antibiòtics com a promotors del creixement, especialment durant el període posterior al deslletament. Aquests suplementos incrementen la taxa de creixement degut, en part, a que atenuen la resposta del sistema immunitari. Per exemple, s'ha pogut observar que la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques redueix la sobreestimulació immunitària en un model de malaltia inflamatòria intestinal. El sistema immunitari mucosal comú connecta els llocs inductors (en aquest cas la mucosa intestinal) amb els llocs efectors (com les mucoses naso- i broncoalveolar o la genito-urinària), que facilita el moviment de cèl·lules immunitàries entre teixits allunyats anatòmicament i permet que la dieta moduli la resposta associada a infeccions extraintestinals. Així doncs, ens hem plantejat si la suplementació dietètica amb proteïnes plasmàtiques podia modular la resposta immunitària en una inflamació pulmonar aguda. Primerament es va establir una pauta adequada per obtenir un model d'inflamació pulmonar robust i reproduïble. Seguidament s'han estudiat els efectes dels suplementos SDP i IC sobre la resposta immunitària en aquest model d'inflamació, en ratolins acabats de deslletar. S'han analitzat cèl·lules i mediadors inflamatoris involucrats tant en la resposta innata, com en la resposta adaptativa. Finalment, també s'han estudiat els efectes dels pinsos experimentals sobre diferents elements que intervenen en la resolució de la resposta inflamatòria, com les cèl·lules reguladores i les citocines antiinflamatòries. L'administració de LPS produeix una migració de leucòcits i un alliberament massiu de citocines i quimiocines proinflamatòries, que recluten i activen monòcits i neutròfils a l'espai alveolar i al teixit pulmonar. A més estimula la immunitat adaptativa, en la que hi ha un increment considerable de limfòcits Th activats, així com una gran producció de citocines. Ambdues dietes disminueixen el reclutament de leucòcits, sobretot els neutròfils i els monòcits. Tot i que la resposta innata és més extensa, les dietes són més efectives sobre la resposta adaptativa, on redueixen les poblacions limfocitàries estimulades per l'LPS tant a pulmó com a sang. Els suplementos també atenuen de forma notable l'efecte de l'LPS sobre l'expressió de citocines i quimiocines proinflamatòries a l'espai alveolar. Els efectes de l'SDP i l'IC estan mediatos per canvis en l'expressió de citocines antiinflamatòries, ja que augmenten la concentració de IL-10 a pulmó i a jejú, i la del TGF- β a pulmó. Ambdues dietes redueixen el balanç entre els limfòcits Th activats i els limfòcits T reguladors, d'aquesta manera atenuen la magnitud de la resposta inflamatòria i augmenten la concentració de mediadors essencials per la reparació del teixit. Els resultats d'aquest estudi indiquen que els suplementos amb proteïnes plasmàtiques poden limitar la resposta immunitària pulmonar i podrien ser útils en la prevenció i atenuació de les malalties inflamatòries extraintestinals.

El concentrado de plasma seco por pulverización (SDP) y el de inmunoglobulinas (IC) son suplementos dietéticos que han estado ampliamente utilizados en la alimentación de los animales de granja y que han estado propuestos como alternativa al uso de los antibióticos como promotores del crecimiento, especialmente en el período posterior al destete. Estos suplementos incrementan la tasa de crecimiento debido, en parte, a que atenúan la respuesta del sistema inmunitario. Por ejemplo, se ha podido observar que la suplementación dietética con proteínas plasmáticas reduce la sobreestimulación inmunitaria en un modelo de enfermedad intestinal. El sistema inmunitario mucosal común conecta las áreas inductoras (en este caso la mucosa intestinal) con las áreas efectoras (las mucosas naso- y broncoalveolares o la genito-urinaria), que facilita el movimiento de células inmunitarias entre tejidos alejados anatómicamente y permite que la dieta module la respuesta asociada a infecciones extraintestinales. Así pues, nos hemos planteado si la suplementación dietética con proteínas plasmáticas podía modular la respuesta inmunitaria en una inflamación pulmonar aguda. Primeramente se estableció una pauta adecuada para obtener un modelo de inflamación pulmonar robusto y reproducible. Seguidamente se han estudiado los efectos de los suplementos SDP y IC sobre la respuesta inmunitaria en este modelo de inflamación, en ratones recién destetados. Se han analizado células y mediadores inflamatorios involucrados tanto en la respuesta innata, como en la respuesta adaptativa. Finalmente, también se han estudiado los efectos de los piensos experimentales sobre diferentes elementos que intervienen en la resolución de la respuesta inflamatoria, como las células reguladoras y las citocinas antiinflamatorias. La administración de LPS produce una migración de leucocitos y una liberación masiva de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, que reclutan y activan monocitos y neutrófilos al espacio alveolar y al tejido pulmonar. Además estimula la inmunidad adaptativa, en la cual hay un incremento considerable de linfocitos Th activados, así como una gran producción de citocinas. Ambas dietas disminuyen el reclutamiento de leucocitos, sobre todo los neutrófilos y los monocitos. Aunque la respuesta innata es más extensa, las dietas son más efectivas sobre la respuesta adaptativa, donde reducen las poblaciones linfocitarias estimuladas por el LPS tanto a pulmón como a sangre. Los suplementos también atenúan de forma notable el efecto del LPS sobre la expresión de citocinas y quimiocinas proinflamatorias en el espacio alveolar. Los efectos del SDP y el IC están mediados por cambios en la expresión de citocinas antiinflamatorias, ya que aumentan la concentración de IL-10 a pulmón y a yeyuno, y la del TGF- β a pulmón. Ambas dietas reducen el balance entre los linfocitos Th activados y los linfocitos T reguladores, de esta manera atenúan la magnitud de la respuesta inflamatoria y aumentan la concentración de mediadores esenciales para la reparación del tejido. Los resultados de este estudio indican que los suplementos con proteínas plasmáticas pueden limitar la respuesta inmunitaria pulmonar y podrían ser útiles en la prevención y atenuación de las enfermedades inflamatorias extraintestinales.

The concentrated spray-dried plasma (SDP) and immunoglobulin (IC) are dietary supplements that have been widely used in the diet of farm animals and proposed as an alternative to the use of antibiotics as growth promoters, especially in the subsequent weaning period. These supplements increase the growth rate, in part because they attenuate the response of the immune system. For example, it has been observed that the dietary supplementation with plasma proteins reduces the immune overstimulation in a model of inflammatory intestinal disease. The common mucosal immune system connects the inductive sites (in this case the intestinal mucosa) with the effector sites (as nasopharyngeal and bronchoalveolar mucosa or genito-urinary), which facilitates the movement of immune cells between anatomically distant tissues and allows the diet to modulate the associated response to intestinal infections. Consequently, the aim of the present thesis was to evaluate whether the dietary supplementation with plasma proteins could modulate the immune response in an acute lung inflammation. First, a suitable pattern was established in order to obtain a robust and reproducible inflammatory lung model. Next, the effects of SDP and IC supplementation on the immune response in this inflammation model were studied in newly weaned mice. Cells and inflammatory mediators involved either in innate response as in adaptive response have been analyzed. Finally, the effects of experimental feed on different elements involved in the resolution of the inflammatory response, such as regulatory cells and inflammatory cytokines, have also been assessed. The administration of LPS produces a migration of leukocytes and a massive release of pro-inflammatory cytokines and chemokines, which recruit and activates monocytes and neutrophils in the alveolar space and lung tissue. Furthermore, it also stimulates the adaptive immunity, in which there is a considerable increase of the activated Th cells, as well as a large production of cytokines. Both diets decreased the recruitment of leukocytes, particularly neutrophils and monocytes. Although the innate response is more extensive, the diets are more effective on the adaptive response, where the lymphocyte populations stimulated by LPS in both lung and blood is reduced. The supplements also significantly attenuated the effect of LPS on the expression of pro-inflammatory cytokines and chemokines in the alveolar space. The effects of SDP and IC are mediated by changes in the expression of anti-inflammatory cytokines, since they increased the concentration of IL-10 in lung and jejunum, and TGF- β in lung. Both diets reduced the balance between activated Th cells and regulatory T cells, in such a way that, the magnitude of the inflammatory response is attenuated and the concentration of essential mediators for tissue reparation is increased. In conclusion, the results of this study indicate that plasma protein supplementation is able to limit the pulmonary immune response and could be useful in the prevention and attenuation of the extraintestinal inflammatory diseases.