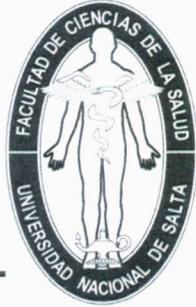




Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

VISTO: La nota presentada por la Mgs. Adriana RAMÓN solicitando aprobación de protocolo de utilización de animales, en el proyecto denominado **“Microencapsulación de aceite de chía para fortificar quesos de cabra”**, y;

CONSIDERANDO:

Que la Mgs. Adriana RAMÓN, de fojas 23 a 40, presenta proyecto de protocolo para la utilización de animales de experimentación, para ser evaluado por el Comité Institucional del Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL).

Que los investigadores responsables del proyecto, a fojas 41 a 42, presentan correcciones del protocolo para su aprobación.

Que el Comité, a fojas 43, emite dictamen aprobando el mencionado proyecto.

POR ELLO: en uso de las atribuciones que le son propias y en virtud de lo aconsejado por la Comisión de Docencia, Investigación y Disciplina, de este Cuerpo, en Despacho N° 86/18;

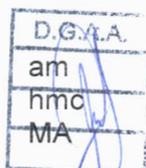
EI CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

(En Sesión Ordinaria N° 05/18, del 24/04/18)

RESUELVE

ARTICULO 1º: Aprobar el protocolo de utilización de animales para experimentación en la ejecución del proyecto de investigación denominado: **“Microencapsulación de aceite de Chía para fortificar quesos de cabra”**; presentado por la Mgs. Adriana RAMÓN, Dra. Marisa RIVAS, Lic. Enzo GONCÁLVEZ, y Lic. Noelia PAZ, el que como Anexo I forma parte de la presente resolución.

ARTÍCULO 2º Hágase saber y remítase copia a: Investigadores responsables del proyecto, Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, y siga a Dirección Administrativa Académica de esta Facultad a sus efectos.



Eugenia María Villaci
M.GS. EUGENIA MARIA VILLACI
SECRETARÍA DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN
Y EXTENSIÓN AL MEDIO
FAC. DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa



Maria Silvia Forsyth
Lic. Maria Silvia Forsyth
Decana
Facultad de Ciencias de la Salud - UNSa



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

PROTOCOLO DE UTILIZACION DE ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Instituto de Patología Experimental– CONICET

Facultad de Ciencias de la Salud

Universidad Nacional de Salta

Fecha de presentación: 19 de febrero de 2018.

Título del Trabajo: Microencapsulación de aceite de chía para fortificar quesos de cabra.

Investigadores Responsables: Adriana Ramón, Enzo Goncalvez de Oliveira, Noelia Fernanda Paz y Marisa Rivas.

Lugar de Trabajo: Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta.

Teléfono Laboral:4258635

Email: ramon@unsa.edu.ar, egoncalvez@unsa.edu.ar

Solicita este aval para la presentación de:

- Beca
- Tesis
- Proyecto de Investigación
- Docencia
- Otros(Especificar)

¿Cuenta con capacitación para el trabajo con animales de experimentación?

Equipo de trabajo:

Con Capacitación: Enzo Goncalvez de Oliveira, Noelia Paz;

Sin Capacitación: Marisa Rivas; Adriana Ramón

	No
x	Si

(no invalida la aprobación del protocolo)
(adjuntar certificado)



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
 REPUBLICA ARGENTINA
 TELEF. (0387) 4255404/330/332
 TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, 29 MAY 2018
 Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

JUSTIFICAR EL USO DEL MODELO ANIMAL FRENTE A MÉTODOS ALTERNATIVOS IN VITRO

Declaración de métodos alternativos

Técnicas o estrategias experimentales que cumplen con el principio de las tres erres (**R**edución del número de animales, **R**efinamiento de la técnica y **R**eemplazo de animales por otras técnicas)

En nuestro grupo de trabajo se han estudiado el efecto hipolipemiante de palta y del malonilaldehído (MDA) sobre las lipoproteínas plasmáticas en ratas, pero no se evaluó aún los omegas 3. Además, no se encontró bibliografías que respalden el efecto del ácido alfa linolénico (omega 3) proveniente del aceite de chía incorporado a un queso de cabra en el perfil lipídico en sangre.

Indicar el motivo por el cual no se plantea aplicar métodos alternativos al procedimiento propuesto:

El procedimiento propuesto es un método alternativo	
No existe método alternativo al procedimiento	x
Existen métodos alternativos, pero no están validados	
Otros motivos: (Especificar en detalle)	

Justificar con bibliografía

Abilés J., Ramón, A.N., Moratalla, G., Pérez-Abud, R., Morón Jiménez J., Ayala A. (2009) Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. Nutr. Hosp. 24(4):473-478.

Jemil, I., Abdelhedi, O., Nasri, R., Mora, L., Marrekchi, R., Jamoussi, K., EIFeki, A., Hajji, M., Toldra, F., Nasri, M. (2016). Hypolipidemic, antiobesity and cardioprotective effects of fermented protein hydrolysates from sardinelle (*Sardinellaaurita*) in high-fat and fructose diet fed Wistar rats. LifeScience, S0024-3205, 30422-2.

[Firma manuscrita]



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
 REPUBLICA ARGENTINA
 TELEF. (0387) 4255404/330/332
 TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, **29 MAY 2018**
 Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

Marineli, R. da S. *et al.* (2015) «Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1?? expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats», *Nutrition*. doi: 10.1016/j.nut.2014.11.009

Poudyal, H. *et al.* (2013) «Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats», *Journal of Nutritional Biochemistry*. Elsevier Inc., 24(6), pp. 1041-1052. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.07.014

Suarez, C. *et al.* (2012) «Dietas ricas en grasa y composición corporal a lo largo de dos generaciones. Estudio experimental», *Endocrinología y Nutrición*, 59(4), pp. 232-238. doi: 10.1016/j.endonu.2012.01.001.

En caso de tratarse de pequeños roedores de laboratorio (rata/ratón/hámster/gerbil), indicar su condición microbiológica (convencionales/ libres de patógenos específicos). **Debe adjuntar el perfil sanitario de los animales.**

Condición microbiológica de los ratones: (Se adjunta)

Animales de Experimentación

Especie	Cepa	Edad	Sexo	Nº de animales usados anualmente
<i>Rattus norvegicus</i>	Wistar Endocriadas	10 semanas	Macho	20 animales

Lugar donde se obtienen los animales utilizados para la experimentación (los Proyectos):

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



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

29 MAY 2018
Salta,
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

Condiciones del Bioterio

C i c l o luz/oscuridad	Temperatura	Extracción de aire	Cambio de cama	O t r o s (Humedad)
12 hs.	23 ± 1°C	10-14 recambios/hora	1 vez /semana, 2 veces si fuera necesario.	53 ± 2 %

Justificar el uso de los animales, la elección de la especie y el número usado:

El desarrollo de productos alimenticios con propiedades funcionales implica una serie de dificultades tales como: dosificación del ingrediente funcional, modalidad de incorporación al alimento y modificaciones de sabores. Los compuestos con actividad biológica pueden alterarse debido a reacción de oxidación, degradación por pH, temperatura o luz, perdiendo así su funcionalidad. La tecnología de microencapsulación mejora la vida útil de las sustancias bioactivas cuando se incorporan a productos alimenticios.

Para evaluar el efecto de estos alimentos sobre la salud se debe realizar estudios con evidencias científicas, para luego poder informar al consumidor de manera clara a fin de no inducir errores o confusiones sobre ellos.

Esta validación se puede realizar mediante estudios que determinen la capacidad bilógica del producto funcional in vitro (condición de digestión simulada) e in vivo (con animales de laboratorios). No se cuenta con bibliografía en modelos animales que evidencien el efecto del ácido graso alfa linolénico adicionado a un queso en el metabolismo luego de la digestión y absorción de este omega 3.

En Argentina no se ha reglamentado la validación de los alimentos funcionales. En Europa para poder denominar a un producto "funcional innovador", se debe cumplir con los requerimientos establecidos en el Reglamento 1924/2006, sobre alegaciones nutricionales y declaraciones de propiedades saludables. A partir del mismo se desarrolla el procedimiento de aprobación de los "health claims" por parte de la Comisión Europea. Las solicitudes de



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, **29 MAY 2018**
Expediente N° **12.048/18**

ANEXO I

autorización de declaraciones específicas sobre propiedades saludables deben prepararse y presentarse siguiendo criterios administrativos, jurídicos, técnicos y científicos muy exigentes. Por ello la importancia de comprobar el efecto hipolipemiante del omega 3 incorporado a un alimento, como es el queso, para poder a futuro hacer una alegación de salud sobre el beneficio para la población.

Se evaluará el efecto hipolipemiante de quesos de cabra con adición de aceite de chía a diferentes concentraciones administrado dentro de una alimentación equilibrada a animales de laboratorio. Se elaborarán las dietas, que serán presentadas en forma de polvo compacto al animal en recipientes de vidrio con una capacidad de 50 ml. Para tener una mayor homogeneidad y disminuir la variabilidad biológica en los grupos, se utilizarán 20 ratas Wistar machos de la misma edad (a fin de evitar la influencia hormonal generada en las hembras). Los animales serán estratificados según pesos iniciales y luego aleatorizados en 5 grupos. El estudio se realizará en dos etapas, organizado de la siguiente manera:

Etapa 1: _

- Grupo 1: Dieta control con requerimiento normal
- Grupo 2: Dieta hipergrasa
- Grupo 3: Dieta hipergrasa
- Grupo 4: Dieta hipergrasa
- Grupo 5: Dieta hipergrasa

Etapa 2: _

- Grupo 1: Dieta control con requerimiento normal
- Grupo 2: Dieta control con requerimiento normal luego de dieta hipergrasa
- Grupo 3: Dieta con queso de cabra sin adición aceite de chía microencapsulado.
- Grupo 4: Dieta con queso de cabra adicionado aceite de chía microencapsulado al 4 %.
- Grupo 5: Dieta con queso de cabra adicionado aceite de chía microencapsulado al 8 %.

Los animales se colocarán en jaulas y se mantendrán en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Salud, bajo condiciones de humedad ($55 \pm 2\%$), luz (artificial de 8 a.m. a 8



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

p.m.) y temperatura (23 ± 1 °C) controladas. Al inicio de la experiencia, al finalizar la etapa 1 y 2, se efectuarán extracciones de sangre por corte de cola, para realizar determinaciones bioquímicas de glucemia, Colesterol Total (CT), Lipoproteínas de Alta Densidad, (HDL), Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL), Triglicéridos (TG), Transaminasa Glutámico Pirúvica (GPT) y Transaminasa Glutámico Oxalacética (GOT) con analizador automático A – 15 de Biosystems, por técnicas enzimáticas, con controles de calidad externos en el Centro de Educación Médica e Investigación Clínica “Norberto Quierno” (CEMIC) de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, mediante el ProgBA sobre preparación de muestras y esquemas de control externos.

También se tomará muestra de tejido hepático, adiposo blanco y tejido muscular esquelético al finalizar la etapa 1 en 4 ratas y concluido el experimento a las restantes a fin de estudiar peroxisoma proliferador activado del receptor (PPAR). Dentro del mismo se encuentra 3 isotipos: PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ . Estos regulan procesos metabólicos específicos. Los PPAR modulan genes que regulan el balance de energía, homeostasis de glucosa, metabolismo de los triglicéridos y lipoproteína, síntesis de ácidos grasos, oxidación, almacenamiento, proliferación celular, inflamación y función del tejido vascular; por lo que contribuye a la patogenia de enfermedades metabólicas como obesidad, síndrome metabólico, dislipemias, diabetes, hígado graso no alcohólico y arterosclerosis.

La elección de la especie se debe a que la misma presenta las siguientes ventajas:

- Como mamífero, tiene procesos bioquímicos similares al hombre.
- Tiempos generacionales cortos, facilitando la obtención de resultados.
- Gran adaptabilidad a la vida en los bioterios, lo que permite controlar las variables ambientales en las experiencias.
- Facilidad de cuidado, manejo y mantenimiento respecto a otras especies.
- Comparte con el hombre el privilegio de ser la especie de mamífero mejor estudiada desde el punto de vista genético.



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº

355-18

29 MAY 2018

Salta,
Expediente Nº 12.048/18

ANEXO I

- Tienen mayor tamaño que el ratón, lo que permite tomar una cantidad suficiente de muestras de sangre para las determinaciones.

Costamagna M.S., Zampini I.C., Alberto M.R., Cuello S., Torres S., Pérez J., Quispe C., SchmedaHirschmann G., Isla M.I. (2016) Polyphenols rich fraction from Geoffroeadecorticans fruits flour affects key enzymes involved in metabolic syndrome, oxidative stress and inflammatory process. *FoodChemistry* 190, 392-402.

¿Cómo determinó el tamaño mínimo de la muestra?

El número de animales usados se planteó en base a revisiones bibliográficas.

Abilés J., Ramón, A.N., Moratalla, G., Pérez-Abud, R., Morón Jiménez J., Ayala A. (2009) Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. *Nutr. Hosp.* 24(4):473-478.

Marineli, R. da S. *et al.* (2015) «Chia (*Salvia hispanica* L.) enhances HSP, PGC-1 expressions and improves glucose tolerance in diet-induced obese rats», *Nutrition*. doi: 10.1016/j.nut.2014.11.009.

Poudyal, H. *et al.* (2013) «Effects of ALA, EPA and DHA in high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats», *Journal of Nutritional Biochemistry*. Elsevier Inc., 24(6), pp. 1041-1052. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.07.014.

Tipo y tamaño de las jaulas utilizadas en el proyecto, indicando cantidad de animales alojados y su edad.

Se emplearán 20 jaula de policarbonato de 40 x 30 cm. Se alojará un animal por jaula. Se comenzará la experiencia cuando los mismos tengan 10 semanas de vida.

Duración del proyecto con animales (fecha de inicio y finalización):

120 días.

Fecha de inicio: 20 de febrero de 2018

Fecha de finalización: 20 de junio de 2018



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, **29 MAY 2018**
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

¿Cuenta con soporte veterinario o técnico calificado?

	No
x	Si

Veterinaria: **María Celia Mora**

Además, se cuenta con la colaboración de un estudiante avanzado de la carrera Licenciatura en Biología que cumple funciones como becario de Formación en el Bioterio.

PROYECTO- TITULO:

Microencapsulación de aceite de chía (*Salvia hispánica L.*) para fortificar queso de leche de cabra.

Objetivos de los Experimentos:

El objetivo general de este experimento será estudiar el efecto del queso a base de leche de cabra, adicionado con aceite de chía microencapsulado, sobre los parámetros fisiológicos en un modelo experimental con dislipemia inducida por manipulación dietaria.

Fundamentos y propósito del proyecto, sus beneficios científicos o valor docente previsto:

Los cambios observados en los últimos años en el perfil de los consumidores y en sus hábitos alimenticios impulsó a las industrias de alimentos, a elaborar productos saludables, destinados a satisfacer necesidades de personas sanas, que tengan efectos protectores sobre el organismo y eviten posibles enfermedades, sobre todo las crónicas no trasmisibles (ECNT) (Alfonso Valenzuela y Sanhueza, 2009). Estas explican más del 60% de las muertes en Argentina, relacionadas directamente con el estilo de vida y específicamente la alimentación (Ministerio de Salud, 2011). Entre los componentes que tienen efectos benéficos y contribuyen a prevenir las ECNT se encuentran los ácidos grasos esenciales



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018⁷
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

omega 3 (AG ω -3) (ácido: eicosapentaenoico, docosahexanoico y α linolénico) y omega 6 (ácido linoleico y araquidónico) (Alfonso Valenzuela y Sanhueza, 2009); (Coronado Herrera, Salvador Vega, Rey Gutiérrez, García Fernández, y Díaz González, 2006). Los primeros poseen propiedades antiinflamatorias, antiarrítmicas y antitrombóticas, además, en conjunto con los omega 6 reducen los niveles de colesterol total y mejoran la relación HDL y LDL colesterol (Rodríguez, De Bonis, González Posada, Torres, Pérez, Domínguez, Lorenzo, y Hernández, 1997); (FAO, 2013), y deben ser aportados por la dieta ya que el organismo no los puede sintetizar.

Procedimientos Experimentales:

a) Describa en forma breve los procedimientos experimentales que serán realizados en los animales y con qué frecuencia. Disponibilidad o adecuación de los procedimientos que causen el menor daño o sufrimiento posible.

Durante el tiempo que dure la experimentación, los animales serán sometidos a dietas experimentales *ad libitum*.

Los requerimientos nutricionales de los roedores fueron establecidos por el Instituto Americano de Nutrición, denominado AIN 93 y los valores correspondientes se observan en Anexo I. Así mismo se brindará mezclas de vitaminas y minerales establecidas específicamente para estos animales.

Diariamente se controlará agua y comida. Se mantendrá un registro de consumo diario de alimentos.

Como se mencionó anteriormente, los animales se dividirán mediante estratificación y aleatorización en 5 grupos (Tabla 1), uno de estos recibirá dieta normal (control), en los otros se les dará una alimentación que permita obtener un modelo experimental de dislipemia a través de la administración de una solución de fructosa al 20 % en



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

reemplazo del agua de bebida y la incorporación de grasa de origen bovino al 30 % como fuente de ácidos grasos saturados a su régimen alimentario. Al cabo de 3 meses, a los grupos con dislipemias inducido se les administrará dietas que contendrán queso de cabra con adición de 0, 4 y 8 % de microcápsulas de aceite de chía. Los dos últimos son fuentes de ácidos grasos alfa linolénico (omega 3).

Los requerimientos nutricionales de proteínas, carbohidratos y lípidos se cubrirán con caseinato, almidón de maíz y aceite de soja respectivamente, a los que se les incorporará las mezclas de minerales y vitaminas.

En la Tabla 2 se describe la composición de macronutrientes de los quesos que se emplearán en los ensayos en la segunda etapa.

Tabla 1 Grupos de ratas y distribución de las dietas que se administrarán

Grupo	Etapla 1: primeros 90 días	Etapla 2: del día 91 al 120
1	Dieta control	Dieta control
2	Dieta hipergrasa	Dieta control
3	Dieta hipergrasa	Dieta 1
4	Dieta hipergrasa	Dieta 2
5	Dieta hipergrasa	Dieta 3

Tabla 2 Composición de Proteínas y Grasas de los quesos de cabra (g 100 g⁻¹)

Nutrientes	Queso Patrón (g)	Queso con 4 % de microcápsulas con aceite de chía (g)	Queso con 4 % de microcápsulas con aceite de chía (g)
Proteínas	25	19	18
Grasas	27	29	31

En la Tabla 3 se describe la composición de la dieta control, la dieta hiperlipemiante (rica en grasa) y en la Tabla 4 las dietas 1, 2 y 3 donde se cubrirá los requerimientos de grasa con el



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

29 MAY 2018

Salta,
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

queso y los demás nutrientes se complementarán con almidón de maíz, caseinato de calcio, mix de minerales y vitaminas.

Se realizará monitoreo de peso cada semana, se utilizará una balanza marca KERN EG/EW de 1000 gramos de capacidad. La rata será colocada en un inmovilizador para proceder a la toma de peso.

Tabla 3 Composición de las dietas control y rica en grasa empleadas para las ratas

Nutriente	Dieta Control AIN 93 (g)	Dieta rica en grasa (g)
Proteínas	12,8	12,8
Grasas	9,7	30
Hidratos de Carbono	77,5	67,2
Mineral Mix AIN 93 M	3,5	3,5
Vitamin Mix	1,0	1,0
L-cistyne	1,8	1,8
Choline Bitartrate	2,5	2,5
T-butyl- hydroquinone	0,008	0,008

Tabla 4 Composición de las dietas con queso de cabra empleadas para las ratas

Nutriente	Dieta 1		Dieta 2		Dieta 3	
	Composición (g en 51,2 g queso)	Agrega r (g)	Composición (g en 33,44 g queso)	Agrega r (g)	Composición (g en 31,29 g queso)	Agrega r (g)
	Queso de cabra Patrón		Queso de cabra con 4 % de microcápsulas con aceite de chia		Queso de cabra con 8 % de microcápsulas con aceite de chia	
Proteínas	9	3,8*	6,35	6,44*	5,6	7,16*
Grasas	9,7	0	9,7	0	9,7	0



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

Nutriente	Dieta 1		Dieta 2		Dieta 3	
Hidratos de Carbono	0	77,5**	0	77,5**	0	77,5**
Mineral Mix AIN 93 M	-	3,5	-	3,5	-	3,5
Vitamin Mix	-	1,0	-	1,0	-	1,0
L-cystine	-	1,8	-	1,8	-	1,8
Choline Bitartrate	-	2,5	-	2,5	-	2,5
T-butyl-hydroquinone	-	0,008	-	0,008	-	0,008

*Caseinato de calcio

**Almidón de maíz

Procedimientos que se realizarán a los animales:

La extracción de sangre se realiza mediante los siguientes pasos:

1. Se colocará a los animales durante 15 minutos bajo lámpara.
2. Se anestesiará al animal con isoflurano inhalatorio.
3. Se sumergirá la cola en agua a 40 °C durante 5 minutos.
4. Se aplicará etanol al 70 % sobre la cola y se secará.
5. Se realizará un corte en biselar a 0,5 cm del extremo de la cola para obtener la sangre.
6. Se aplicará presión suave y se recogerá la sangre en tubo de hemólisis con heparina.
7. Se aplicará agua oxigenada a la herida.
8. Finalmente, se realizará una presión suave con torunda estéril para evitar el sangrado.

En suero se determinará:

- CT



Universidad Nacional de Salta FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N°

355-18

Salta, 29 MAY 2018
Expediente N° 12.048/18

- HDL

ANEXO I

- LDL
- TG
- Glucemia
- GOT
- GPT

Estos procedimientos se realizarán:

Día 0: previo al comienzo del tratamiento.

Día 90: posterior al tratamiento con la dieta rica en grasas.

Día 120: posterior al tratamiento con las dietas a base de queso de leche de cabra microencapsulado con aceite de chía al 0, 4 y 8 %.

Luego del tratamiento de la etapa 1 se seleccionará al azar 4 ratas para sacrificarlas mediante eutanasia a fin de tomar muestra de tejido hepático, adiposo blanco y tejido muscular esquelético que serán congelados con el objetivo de realizar el estudio de actividad de genes. Este mismo procedimiento se realizará al finalizar la experimentación a las demás ratas. Se estudiará peroxisoma prolifector activado del receptor

b) En lo posible indique si existen publicaciones con referato internacional donde el/los modelos o el/los procedimientos experimentales hayan sido aprobados por comités de ética institucionales.

Marineli *et al.*, 2015 estudiaron a la chía (*Salvia hispanica* L.) como mejorar las expresiones de HSP, PGC-1 α y la tolerancia a la glucosa en ratas obesas inducidas por dieta. Trabajo fue aprobado por la Comisión de Ética en el Uso de Animales (CEUA /UNICAMP, protocolo no. 2936-1) de la Universidad de Campiñas Brasil.

Poudyal *et al.*, 2013 estudiaron los efectos de ALA, EPA y DHA en síndrome metabólico inducido por la dieta con alto contenido de carbohidratos y grasas en ratas. El estudio fue



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

Salta, **29 MAY 2018**
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

aprobado por el Comités de Ética de Experimentación con Animal de la Universidad de Queensland y de la Universidad del Sur de Queensland bajo las directrices de la Salud Nacional y Consejo de Investigación Médica de Australia.

c) Mencione el lugar físico donde se llevarán a cabo las maniobras experimentales previstas

Se llevarán a cabo en el bioterio, en sección de trabajo

d) Enumere las maniobras y cuidados posteriores de los procedimientos experimentales

Luego de la extracción de sangre de la cola se aplicará agua oxigenada en la herida con una torunda de algodón realizando hemostasia con leve presión hasta que finalice el sangrado. Finalmente, después de las maniobras, el animal vuelve a su jaula.

e) Mencione los métodos de apareo y crianza, incluyendo: selección de y edad de los reproductores, edad de destete, etc.

No corresponde

PROCEDIMIENTOS A REALIZAR CON LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION:

METODO	SI	NO
Restricción de agua y/o alimento		x
Catéter, intubación		x
Modificación de conducta		x
Inoculación de microorganismos		x
Procedimientos de cirugía c/recuperación		x
Estudios DL50		x
Restricción prolongada + 8 horas		x
Producción de anticuerpos monoclonales		x
Producción de anticuerpos policlonales		x
Procedimientos de cirugía s/recuperación		
Extracción de sangre ¹	x	
Toma de muestras de tejidos ²	x	



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

29 MAY 2018

Salta,
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

1. En caso de respuesta afirmativa a “Extracción de Sangre” completar:

Se colocará en una jaula con viruta y una lámpara para calentar la cola durante 15 minutos, luego se aplicará anestesia por inhalación (isoflurane), se colocará en un dispositivo de inmovilización adaptado para la rata, adecuado para la especie, se lavará la cola de cualquier resto de heces u orina y se aplicará etanol al 70% dejándolo evaporar. Se situará la cola sobre una superficie plana y limpia y cortará perpendicularmente con una hoja estéril de bisturí. Se cambiará la hoja del bisturí entre animales. Se aplicará una suave presión proximalmente al corte y recogerá la sangre en tubos de hemólisis con heparina.

a. Fase del procedimiento:	Al final de cada tratamiento (tres veces)
b. Lugar de extracción:	En la vena caudal
c. Cantidad a extraer:	1,5 ml

2. En caso de respuesta afirmativa a “Toma de muestras de Tejidos” completar:

a. Fase del procedimiento:	A 4 ratas al concluir etapa 1 del ensayo y a las demás concluidas la experimentación.
b. Muestra de tejido a extraer:	Tejido hepático, adiposo blanco y tejido muscular esquelético
c. Cantidad a extraer:	2 a 5 gramos

Administración de drogas, tóxicos, u otras sustancias durante el procedimiento experimental



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

29 MAY 2018
Salta,
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

	SI	NO	Droga	Dosis	Vía	Frecuencia de Administración
Anestésicos	x		Isoflurano	200 µl/l de cámara	Inhalación	1 vez durante cada extracción de sangre.
Analgésicos		x				
Sedantes		x				
Otros						

Los animales serán eutanasiados?	Si	x	No
Método de eutanasia utilizado	La eutanasia se realizará en cámaras con liberación gradual de dióxido de carbono		

Elección del momento de aplicación de eutanasia como punto final del experimento.
Los animales después de la administración de dieta rica en grasas habrán desarrollado dislipemia. Los cambios inducidos por las dietas a base de queso de cabra con microcápsulas de aceite de chía podrán confirmarse luego del último análisis del perfil lipídico.

Disposición de los restos:

Residuos Patológicos

Freezer	
Incineración	X
Otros	

Riesgos para el personal o para la población animal del Bioterio:

INSTRUCCIONES PARA EL PERSONAL TÉCNICO DE LA FCS A CARGO DEL CUIDADO DE LOS ANIMALES:



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- N° **355-18**

29 MAY 2018

Salta,
Expediente N° 12.048/18

ANEXO I

Animales Enfermos		Animales Muertos		Problemas Técnicos	
Llamar al investigador	x	Llamar al investigador	x	Llamar al investigador	x
Sacrificar los animales		Enviar al laboratorio		Llamar al taller	
Enviar al laboratorio		Enviar a incineración			

USO DE AGENTES PELIGROSOS:

Agente	Si	No
Infeciosos		x
Radioisótopos		x
Carcinógenos		x
Tóxicos químicos		x
Tóxicos biológicos		x
O t r o s (especificar)		

En caso afirmativo, indicar:

Agente	Vía de administración	Volumen final	Concentración

(Agregue las filas que sean necesarias)

17- SUPERVISIÓN DE LOS ANIMALES

Describir aquellas fases del procedimiento en el que se prevea que el animal puede experimentar alteraciones del bienestar, dolor o angustia. Detallar el protocolo de supervisión que se utilizará para detectar estas alteraciones, dolor o angustia.

Se considerará punto final el momento cuando el animal presente modificaciones importantes de sus signos vitales y/o comportamiento que comprometan su bienestar. Se prevé que los procedimientos que se realizará serán de categoría leve a moderada debido a que se aplicará una dieta modifica que cubre las necesidades de proteínas, minerales y vitaminas, pero si alta en hidratos de carbono simples y grasa, por lo que se prevé que no



Universidad Nacional de Salta
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

AV. BOLIVIA 5150 – A4408FVY SALTA
REPUBLICA ARGENTINA
TELEF. (0387) 4255404/330/332
TELEF. FAX (0387) 4255456



RESOLUCION -CD- Nº **355-18**

29 MAY 2018
Salta,
Expediente Nº 12.048/18

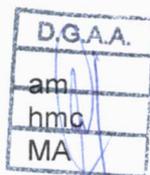
ANEXO I

cause manifestaciones clínicas severa, si una moderada dislipemia (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia). La extracción de sangre será menor al 10 % del volumen circulante y se realizará 3 veces durante la experimentación (al inicio, 90 días después y al final del procedimiento). Previo a la extracción de sangre se retirará la alimentación por 10 horas. Durante toda la experimentación se tendrá presente la Rat Grimace Scale del National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. Si por algún motivo los animales presentan alteraciones importantes de sus signos vitales y/o comportamientos de su bienestar se considerará como punto final.

Procedimiento	Inicio de la supervisión	Duración	Frecuencia de la supervisión
Aplicación de dieta hipergrasa y rica en hidratos de carbono simples	Desde el día 0	90 días	Todos los días se observará para detectar modificaciones en el comportamiento de los animales, registrando si se observa comportamientos anormales.
Ayuno previo a la extracción de sangre	A las 23 horas del día previo a la extracción	10 horas	Desde las 8 de la mañana del día de la extracción y mientras dura el proceso de extracción de sangre.
Recuperación luego de la extracción	Desde la extracción de sangre	24 horas	Desde la extracción de sangre se realizará cada 2 horas luego de la extracción de sangre

El cumplimiento del presente Protocolo será de total responsabilidad del Investigador Responsable, así como del Grupo involucrado.

Nombre y Apellido del Investigador Responsable, así como del Grupo involucrado:



[Firma]
MGS. EUGENIA MARIA VILLAGRAN
SECRETARIA DE POSGRADO, INVESTIGACIÓN,
Y EXTENSIÓN DE SERVICIOS
FAC. DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa



[Firma]
LIC. MARIA SILVIA FORSYTH
DECANA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD - UNSa