

## EFFECTOS COMBINADOS DE LAS VITAMINAS C Y E DIETÉTICAS EN LA INMUNORESPUESTA DEL JUVENIL *Litopenaeus vannamei* ANTES Y DESPUÉS DE LA SUPLEMENTACIÓN CON GLUCANOS.

Se considera que el estado nutricional tiene una influencia importante en la salud y en la capacidad de los animales para resistir enfermedades. Estudios relacionando la nutrición con la función inmune han sido mayormente desarrollados en peces sin embargo su rol en la resistencia a enfermedades es pobremente entendido. Ensayos comparativos fueron realizados para determinar el efecto inmunomodulador de dosis dietéticas altas de vitamina C (como sal de sodio monofosfato L-ascorbato, Vit C) o vitamina E (como acetato del  $d\alpha$  tocoferol, Vit. E) sobre la respuesta inmune no específica en juveniles de *Litopenaeus vannamei*. Los camarones fueron alimentados con 15 combinaciones de Vit. E (50, 150 y 450 mg/kg de alimento) y de Vit. C (50, 100, 250, 500 y 1000 mg/kg de alimento) por 21 días (Primera Fase). Luego, las mismas dietas experimentales conteniendo además 75 mg de  $\beta$ -glucanos de levadura/kg, fueron administradas a los camarones por otros 12 días (Segunda Fase). Parámetros inmunitarios celulares, tales como conteo diferencial de hemocitos (semigranular, SG; granular, G y hialino, H), número total de hemocitos (NTH), radicales del anión superóxido ( $O_2^-$ ) y actividad fenoloxidasas (PO), paralelamente con parámetros humorales como actividad anti-bacteriana (AA) y proteínas del plasma (PP) fueron medidos dos veces en el día 21 y 33.

### Primera Fase: Solo Vitaminas

Se encontraron interacciones significativas entre las dosis de Vit. C y Vit. E con  $O_2^-$ , PO, AA, PP y el índice inmunológico global (GII). No se encontró diferencia estadística para NTH, aunque se observó cambios en el hemograma. Los hemocitos H variaron entre un 10 a 30% y los hemocitos SG entre un 50 a 70%. Las combinaciones que causaron los mejores resultados en los parámetros analizados fueron:

- 1) 150 mg Vit. E/500 mg Vit. C y
- 2) 450 mg Vit. E/250 mg Vit. C.

La segunda combinación además causó un incremento significativo de la actividad PO probablemente por tener una suplementación más alta de Vit. E.

### Segunda Fase: Vitaminas + Glucanos

Los resultados con cada dieta difieren levemente de la fase anterior. Los camarones alimentados con la dieta 50 mg Vit. E/50 mg Vit. C, tuvieron una respuesta significativa del NTH,  $O_2^-$  y GII. Este aumento fue consecuencia de la acción inmunoestimuladora de los glucanos. Por otra parte, esta dieta y las otras con 50 mg Vit. E/kg no mostraron ningún incremento de la actividad PO. También se observó una relación inversa entre los hemocitos SG y H pero esta vez los H fueron predominantes (40-80%). La combinación de 150 mg de Vit. E/500 mg de Vit. C, se mantuvo como una de las relaciones óptimas en cuanto a parámetros inmunitarios pero además la actividad del PO se incrementó probablemente por la incorporación de glucanos. La actividad PO se incrementa bajo dietas con 450 mg Vit. E tanto como sin glucanos y con concentraciones de 50, 100 y 250 mg de Vit. C. La producción de  $O_2^-$  se incrementa con 150 mg Vit. E y cuando se utilizan glucanos más cualquier concentración de Vit. E. La fórmula hemocitaria se modifica (los semigranulosos se incrementan y

los hialinos disminuyen) cuando se incluyen glucanos bajo cualquier combinación de vitaminas.

Al final de este estudio, los animales que presentaron condiciones normales de salud y respuesta inmunitaria según los parámetros evaluados fueron los que recibieron las dietas:

- 150 mg Vit. E/500 mg Vit. C sin  $\beta$ -glucanos
- 450 mg Vit. E/250 mg Vit. C sin  $\beta$ -glucanos;
- 50 mg Vit. E/50mg Vit. C con  $\beta$ -glucanos,
- 150 mg Vit. E/500 mg Vit. C con  $\beta$ -glucanos

Después de la prueba de desafío con WSSV, los camarones alimentados con las dietas 50 mg Vit. E y 50 mg Vit. C con  $\beta$ -glucanos y, la dieta 150 mg Vit. E y 500mg Vit. C sin  $\beta$ -glucanos presentaron la menor velocidad de mortalidad.

### GLOSARIO

**Actividad Antibacteriana (A.A):** cuantificación de la capacidad del crecimiento de bacterias, por parte del plasma (la parte líquida de la hemolinfa del camarón análoga a la sangre). El porcentaje de inhibición normal esta entre el 40 y 60%.

**Actividad Fenoloxidasas (PO):** La actividad fenoloxidasas, es la responsable de la melanización observada en los procesos inflamatorios de los artrópodos (manchas negras en los animales). La experiencia indica valores superiores a 250 m D.O. como ideales en animales saludables.

**Cuantificación del anión superóxido ( $O_2^-$ ).** La *fagocitosis* (ingestión y degradación de microbios invasores por parte de células especializadas) es la reacción de defensa celular más común y constituye la primera línea de defensa una vez que un cuerpo extraño ha pasado la cutícula. Paralelo a este mecanismo se encuentra un proceso de destrucción llamado *choque respiratorio* que es propio de las células fagocitarias maduras, este proceso se manifiesta como un incremento en la actividad metabólica de la célula y una producción de radicales de oxígeno tóxicos (entre estos el anión superóxido)

Se consideran valores  $\leq 1$  como ausencia de generación de superóxido; valores  $> 1.2$  son aceptables, los óptimos se encuentran sobre 1.5.

**Cuantificación de Proteínas plasmáticas (Prot):** determinación del número total de proteínas presentes en el plasma. La concentración de proteínas plasmáticas es un indicador importante del estado fisiológico del animal. La concentración de proteínas plasmáticas en animales saludables es  $\geq 100$  mg/ml.

**Hemograma:** Se realizan dos tipos de análisis en el hemograma, el primer conteo del número total de hemocitos por ml de hemolinfa (NTH). El segundo conteo diferencial de hemocitos o determinación de la fórmula hemocitaria, estos datos se expresan en porcentajes. Los tipos de hemocitos en camarón son, hemocitos granulados, hialinos y semigranulosos. Los hemocitos granulados almacenan grandes cantidades de componentes del sistema profenoloxidasas, responsable de la melanización, intervienen además en encapsulación y nodulación. Los hemocitos hialinos intervienen en fagocitosis y coagulación. Los hemocitos semigranulosos son muy activos e intervienen en fagocitosis, liberación de profenoloxidasas, encapsulación y nodulación. Un juvenil saludable tiene alrededor de 20 millones de hemocitos por ml.

Trabajo realizado por César Molina, Jenny Rodríguez y Fabrizio Echeverría. Financiado parcialmente por ROCHE.