

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la regulación de la expresión de varios genes involucrados en la respuesta inmune tras un reto de inflamación en juveniles de dorada (*Sparus aurata*) alimentados con materias primas de origen vegetal, suplementadas con un compuesto nutraceutico a base de microalgas. Para ello, se formularon tres dietas experimentales: i) dieta control (C+) con una composición nutricional basada en harinas y aceites de origen marino; ii) dieta vegetalizada (C-) con una elevada sustitución (75 %) de ingredientes de origen marino por proteínas y aceites vegetales; y iii) dieta C- suplementada con un 1 % del compuesto nutraceutico LB-IMMUNOboost (IB). Los resultados indicaron que el compuesto nutraceutico IB parece favorecer una respuesta antiinflamatoria (aumento de la expresión de las interleuquinas *il10* e *il15* en bazo y riñón cefálico) sobre la respuesta proinflamatoria, lo que sugiere unos potenciales beneficios de dicho compuesto sobre la respuesta inmune. Esto podría ser beneficioso ante una situación de inflamación aguda, contrarrestando los efectos negativos y potencialmente peligrosos de la misma.

Introducción

Las enfermedades e infecciones producidas por agentes patógenos en peces, así como el estrés generado como consecuencia de alteraciones en el estado homeostático de los ejemplares, suponen dos de los puntos críticos a los que se enfrenta la acuicultura. En este contexto, se ha observado que las microalgas son buenas candidatas como complemento e ingrediente en las dietas, debido a que poseen propiedades inmunoestimulantes, aumentan la tolerancia al estrés y tienen un excelente perfil nutricional. El objetivo de este trabajo fue evaluar la regulación de la expresión de varios genes involucrados en la respuesta inmune tras un reto de inflamación, usando la solución oleaginosa IFA (Adyuvante Incompleto de Freund), en juveniles de dorada (*Sparus aurata*) alimentados con una dieta con un alto nivel de inclusión de materias primas de origen vegetal y otra suplementada con un compuesto nutraceutico a base de microalgas.

Material y Métodos

Se formularon tres dietas: i) dieta control (C+) con una composición nutricional basada en harinas y aceites de origen marino; ii) dieta vegetalizada (C-) con una elevada sustitución (75 %) de ingredientes de origen marino por proteínas y aceites vegetales; y iii) dieta C- suplementada con un 1 % del compuesto nutraceutico LB-IMMUNOboost (IB). Juveniles de dorada de 27-28 g de peso medio inicial fueron distribuidos en nueve tanques (tres por dieta experimental) y alimentados *ad libitum* durante 90 días. Posteriormente, ocho animales por dieta experimental fueron inyectados por vía intraperitoneal con dos tratamientos: i) solución salina (inyección de control) y ii) IFA (100 µL de solución de IFA/100 g de peso fresco). Al final del tiempo experimental y 72 horas post- inyección, se tomaron datos biométricos y se analizó la expresión de algunos genes relacionados con la respuesta inmune en bazo y riñón cefálico.

Resultados y Discusión

Tanto la dieta como el tratamiento con IFA modularon la expresión de varios genes relacionados con la respuesta inmune. Se observó una mayor expresión en los animales del grupo C+/IFA en algunos genes involucrados en la respuesta proinflamatoria (*il6*, *il12b* y *tnfa*) en el bazo 72 horas después de la inyección, que no fue observada en los animales de los grupos C-/IFA e IB/IFA (Fig. 1A y B). Por su lado, en el riñón cefálico, los genes relacionados con la respuesta proinflamatoria, *il8* y *tnfa* (Fig. 1D) mostraron una mayor expresión en los animales alimentados con las dietas C- e IB (un patrón inverso respecto a los resultados en bazo), mientras que *il6* (interleuquina pleiotrópica multifuncional con funciones tanto proinflamatorias como antiinflamatorias) mostró una sobreexpresión en los grupos C+ y C- tras la inyección con IFA, pero no en el grupo IB (Fig. 1C). Una regulación a la baja de las citoquinas proinflamatorias mencionadas constituye un claro patrón de un perfil antiinflamatorio (Pérez-Sánchez *et al.*, 2015). Esta respuesta podría resultar beneficiosa ante una situación de inflamación aguda, contrarrestando los efectos negativos asociados a una respuesta proinflamatoria (Reis *et al.*, 2021). Estudios previos han demostrado que el patrón de expresión de estos genes relacionados con la respuesta inmune son dependientes del tejido en el cual se expresen. Así, algunos autores han relacionado los patrones de expresión en el riñón cefálico como una respuesta a nivel sistémico, ya que han visto favorecida una tendencia antiinflamatoria en tejidos como el bazo y el intestino, y una respuesta proinflamatoria en el riñón cefálico (Falco *et al.*, 2012), como en nuestro caso.

En cuanto a la respuesta antiinflamatoria en bazo y riñón cefálico, se observó que la expresión de algunos genes, como *il10* e *il15*, fue mayor en los animales inyectados con IFA y previamente alimentados con IB

(Fig. 1E, F, G y H), lo que evitaría una respuesta inflamatoria elevada inducida por IFA (Reis *et al.*, 2021). En el caso de la expresión de *il10*, además, se observó una disminución significativa en los grupos alimentados con la dieta control (C+) y la dieta extrema (C-) y tratados con IFA respecto a los inyectados con la solución salina (Fig. 1E y 1G), mientras que en IB la expresión de *il10* e *il15* siempre se reguló positivamente en los animales tratados con IFA (aunque no de forma significativa en todos los casos). De este modo, y en términos generales, la dieta IB, debido a los potenciales beneficios del nutraceutico LB-IMMUNOboost sobre la respuesta inmune, puede estar teniendo un efecto inmunomodulador, favoreciendo un estado antiinflamatorio sobre el proinflamatorio tras una inmuoestimulación con IFA.

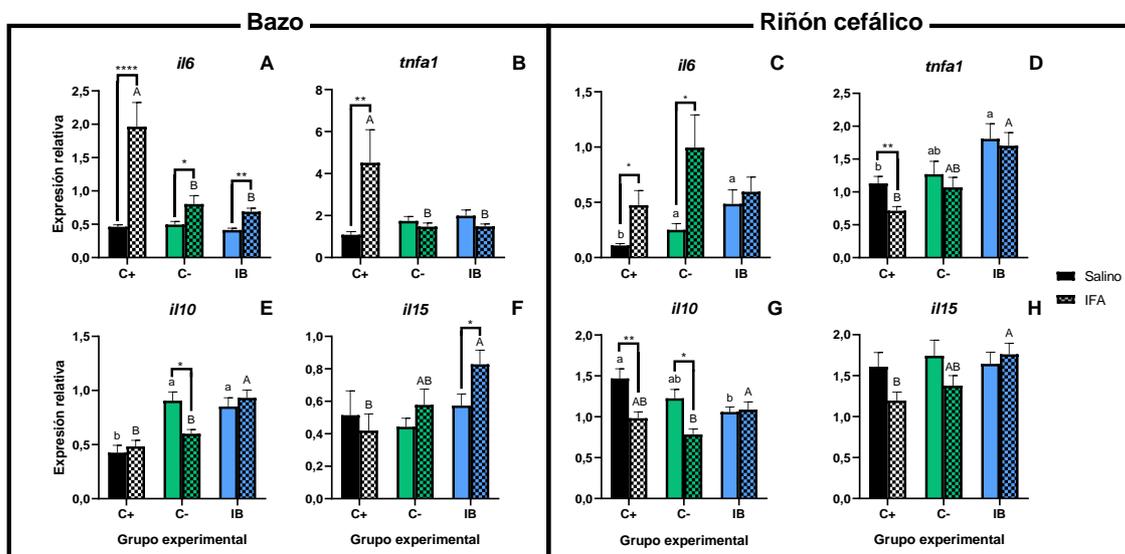


Figura 1. Expresión relativa de algunos genes involucrados en la respuesta proinflamatoria (A, B, C y D) y antiinflamatoria (E, F, G y H) en el bazo (izquierda) y riñón cefálico (derecha) de juveniles de *Sparus aurata*.

Palabras claves

Microalgas, compuestos nutraceuticos, respuesta inmune, *Sparus aurata*.

Bibliografía

- Falco, A., P. Frost, J. Miest, N. Pionnier, I. Irnazarow y D. Hoole. 2012. Reduced inflammatory response to *Aeromonas salmonicida* infection in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fed with β -glucan supplements. *Fish & shellfish immunology*. 32(6): 1051-1057.
- Pérez-Sánchez, J., L. Benedito-Palos, I. Estensoro, Y. Petropoulos, J.A. Caldach-Giner, C.L. Browdy y A. Sitjà-Bobadilla. 2015. Effects of dietary NEXT ENHANCE® 150 on growth performance and expression of immune and intestinal integrity related genes in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Fish & shellfish immunology*. 44(1): 117-128.
- Reis, B., A.T. Gonçalves, P. Santos, M. Sardinha, L.E. Conceição, R. Serradeiro y B. Costas. 2021. Immune status and hepatic antioxidant capacity of gilthead seabream *Sparus aurata* juveniles fed yeast and microalga derived β -glucans. *Marine drugs*. 19(12): 653.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Unión Europea (ERDF 2014-2020) y por la Junta de Andalucía (FEDER-UCA18-107182), y cofinanciado por LifeBioencapsulation S.L. Anyell Caderno está siendo financiada por un contrato predoctoral de la Junta de Andalucía 2021 (PREDOC_02015). Paula Simó-Mirabet cuenta con un contrato postdoctoral "Juan de la Cierva-formación" (FJC2021-047759-I).

Correo del Autor

anyell.caderno@uca.es