

Uso de nutraceuticos para el control de la respuesta inmune e inflamatoria



**FENACAM 2023**

## Botánicos como sustancias inmunomoduladoras y antiinflamatorias

□ Los botánicos tienen interés como sustancias inmunomoduladoras y antiinflamatorias

□ A través de los productos nutracéuticos podemos modificar la microbiota intestinal e influir positivamente sobre el proceso inflamatorio

□ El test de ORAC (capacidad de absorción de radicales libres) determina el potencial antioxidante de sustancias tales como los nutracéuticos, fármacos y alimentos



**Menta**

**Cúrcuma**

ORAC\_R2\_USDA base de datos realizada por USDA (fecha 2010). Y AIR07\_ORAC -La base de datos 275 ingredientes.

**Nutraceutico** 6<sup>a</sup> posición con mayor poder antioxidante 80.300  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$

## Conceptos básicos de inmunología



Sistema inmunológico: red compleja de células, moléculas, receptores y vías de señalización responsables de las respuestas defensivas.



Los peces disponen de inmunidad innata y adaptativa, aunque esta última no está tan evolucionada como en los vertebrados.



**La respuesta innata** comienza con las barreras cutáneas. Si el agente extraño penetra se genera la respuesta celular de la serie blanca y comenzará la respuesta humoral, generación de anticuerpos (inmunoglobulinas).

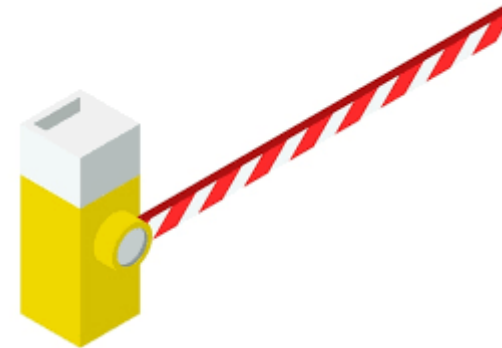


**La respuesta inmune adaptativa** comenzará tras el reconocimiento del antígeno e incluye respuestas celulares y humorales.



Las **citoquinas** son proteínas excretadas por las Células inmunes y actúan como señalizadoras de la respuesta inmune, regulando la intensidad del proceso inflamatorio (citoquinas anti e inflamatorias).

Respuesta inmune  
innata



Respuesta inmune  
adaptativa

□ El estrés oxidativo provoca alteración del sistema inmune, lo que conduce a un estado inflamatorio crónico.

□ El estrés oxidativo sobrecarga de radicales libres (ROS), agentes prooxidantes no compensados por los mecanismos de defensa del organismo.

□ Las sustancias reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ROS/NOS) se detoxican en el organismo por las defensas antioxidantes: enzimas antioxidantes específicas SOD, CAT, GPx y por sustancias no enzimáticas de bajo peso molecular.

□ La Vitamina E y el selenio actúan como antioxidantes exógenos.

Daños del estrés oxidativo:

- Alteración de los tejidos
- Inflamación
- Envejecimiento celular
- Puerta de entrada a patologías

## Estrés oxidativo y sistema inmune



**Producción constante de radicales libres**

# INCLUSIÓN DE UN PRODUCTO NUTRACÉUTICO EN DIETA DE TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*)



## ENSAYOS

Universidad de Ilorin. Nigeria

Universidad Baja California. México

Ensayo industrial. Perú

## EFFECTOS NUTRACÉUTICO

1

Activación de la  
Inmunidad innata  
Incremento células  
blancas linfocitos  
Inmunomodulación

2

Activación de  
enzimas  
antioxidantes  
frente a  
estrés oxidativo  
CAT, SOD, GPX

5

Mejora zootécnica

3

Protección anti  
inflamatoria  
Biomarcadores  
↓ Transaminasas  
↓ PCR

4

Efecto antiestrés  
Reducción de  
cortisol y glucosa

1

Activación de la  
Inmunidad innata

Incremento de células  
blancas linfocitos

Inmunomodulación

Los linfocitos son marcadores de inmunidad.

Niveles elevados de linfocitos incrementan la respuesta inmune innata.

El mayor nivel de linfocitos detectado en los ensayos se asocia con el efecto inmuno modulador del nutraceutico mostrando potencial para influir en el sistema inmune de la tilapia.

Universidad de Illorin . Nigeria 2022

Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

CTRL Vs. Nutraceutico

Nutraceutico: 1 gr / Kg alimento

Duración: 45 días

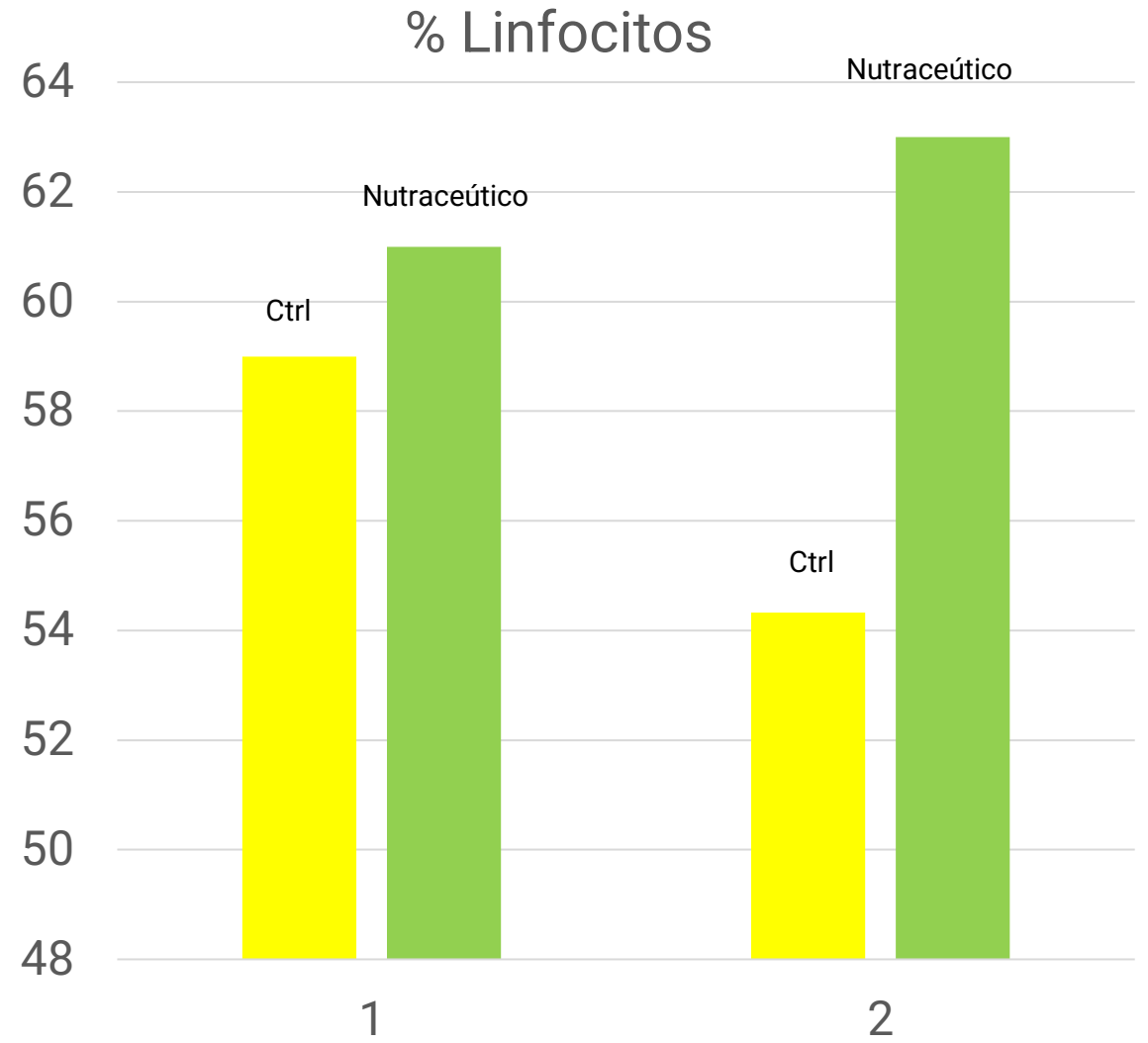
Peces tanque: 21

Peso inicio  $13.18 \pm 0.03g$

2mm pellet

Tanques 60 L

Pre desafío 1 Post desafío 2



Desafío Inyección Intraperitoneal 0.1 ml/pez ( $1.8 \times 10^5$  CFU/ml) *A. hydrophila*



Universidad Baja California

México. 2022

D. control

D. Nutraceutico 0.5 g/Kg alimento

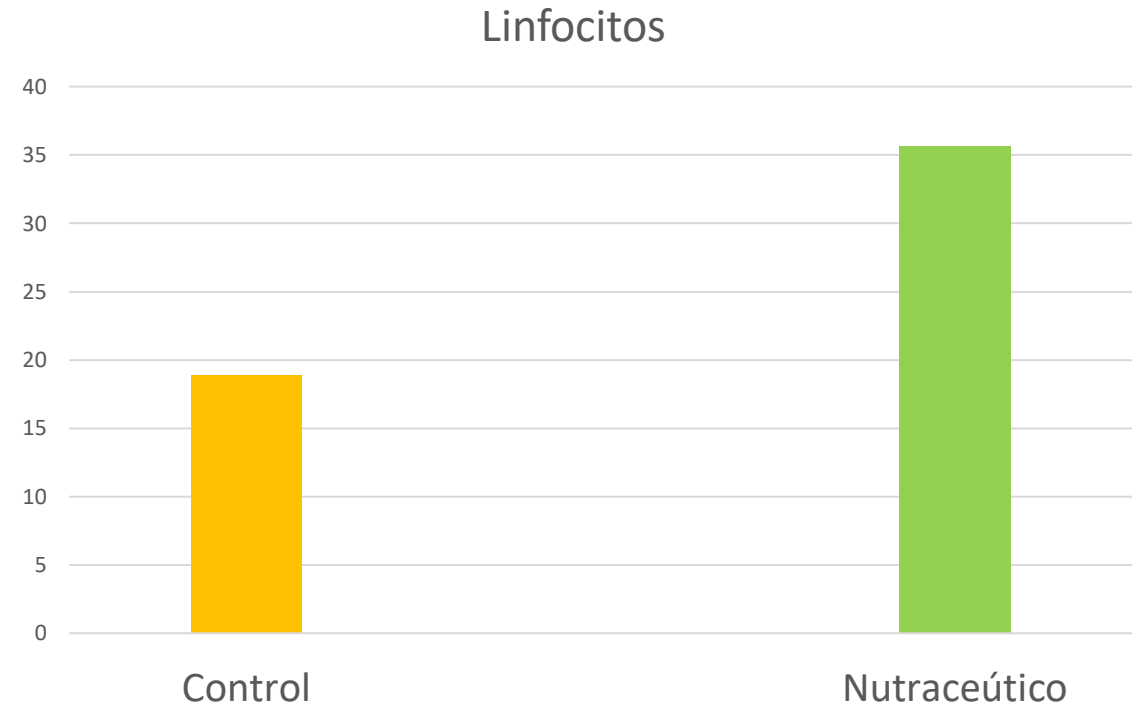
40 peces/tanque

3 réplicas por dieta

Peso inicio:  $1.47 \pm 0.3$  g

Duración: 87 días

Desafio inmersión peróxido de H (30ppm)



	Control	Nutraceutico	
Linfocitos s (x 10 <sup>3</sup> mm <sup>3</sup> )	18.90 ± 0.19 <sup>a</sup>	35.66 ± 0.38 <sup>b</sup>	0.016

2

Activación de enzimas  
antioxidantes frente a  
estrés oxidativo  
CAT, SOD, GPX

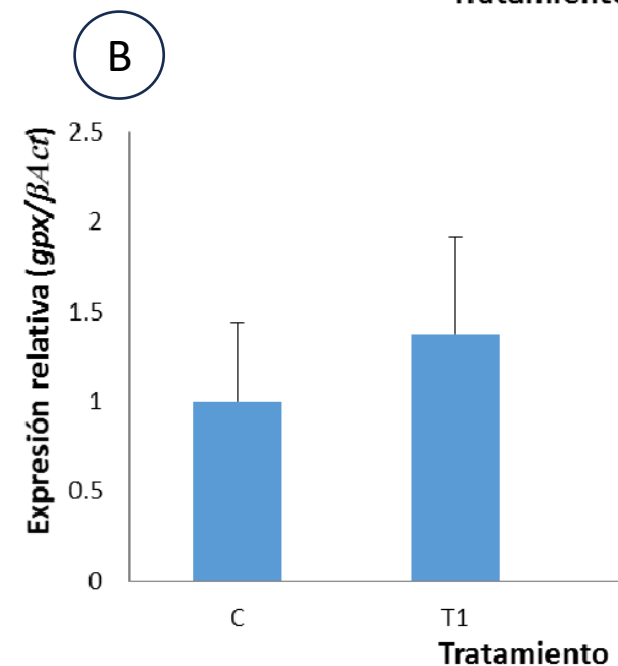
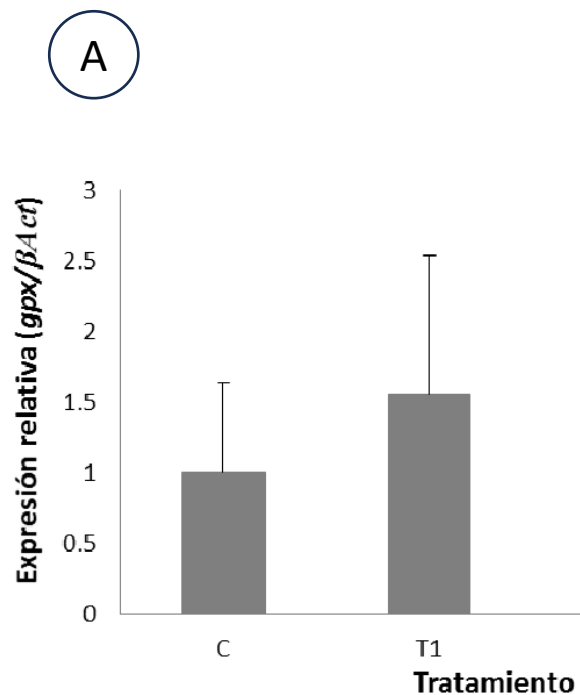
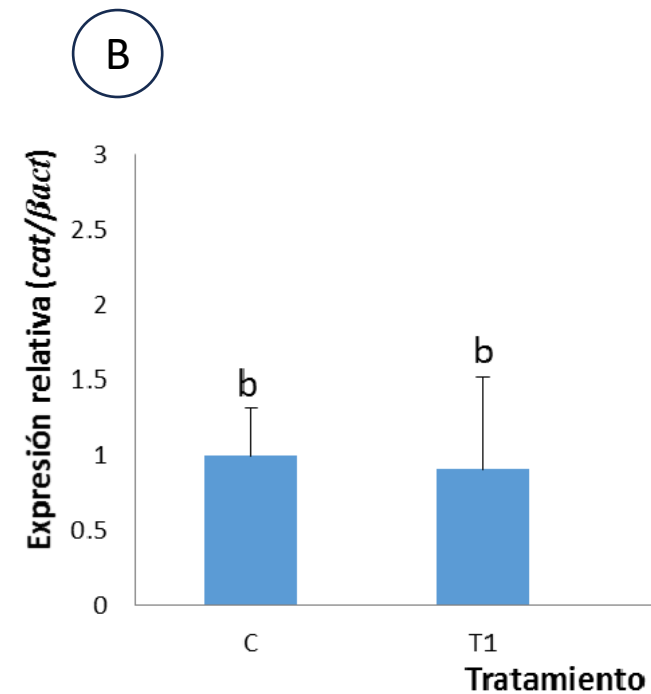
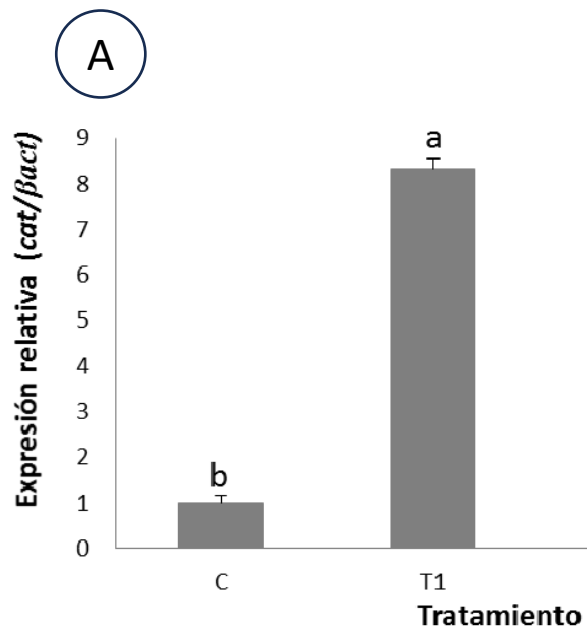
Las enzimas antioxidantes tienen la función de mantener a las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en unos niveles aceptables, con el objetivo de proteger a las células contra el daño oxidativo.

La inclusión del nutraceutico en la dieta demuestra ser capaz de aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes.

Universidad Baja California. México  
Estrés oxidativo

Actividad Catalasa y GPx  
Antes (A) y después desafío (B)

Expresión relativa de catalasa y glucógeno peroxidasa en hígado de tilapias antes y después de exposición a peróxido de hidrógeno durante 30 minutos.



Universidad Illorin Nigeria

Respuesta enzimática

Estrés oxidativo

Actividad SOD, Catalasa y GPx

Pre y post desafío *A. Hydrophila*

		SOD (U/L)		CAT (umol/ml/mins)		GPx (U/L)	
Dieta	Pre-desafío	Post-desafío	Pre-desafío	Post-desafío	Pre-desafío	Post-desafío	
Control	56.60±7.35	1.24 <sup>b</sup> ±0.17	0.63 <sup>b</sup> ±0.06	39.93 <sup>b</sup> ±1.87	278.33±39.42	26.26 <sup>b</sup> ±3.09	
Nutracéutico	57.81±0.52	<b>2.41<sup>a</sup>±0.52</b>	<b>6.01<sup>a</sup>±0.05</b>	<b>52.15<sup>a</sup>±0.40</b>	392.18±27.80	<b>42.20<sup>a</sup>±2.27</b>	
p-value	0.972	0.026*	0.005*	0.012*	0.130	0.016*	

Universidad Illorin Nigeria

Respuesta enzimática

Parámetros de estrés

Parámetros				
	Actividad Lisozima		Estallido respiratorio	
	(U/mg protein)			
Alimento	Pre-desafío	Post-desafío	Pre-desafío	Post-desafío
Control	4.81±0.48	7.49 <sup>b</sup> ±0.26	0.12 <sup>b</sup> ±0.01	0.30 <sup>b</sup> ±0.02
Nutraceutico	5.47±0.98	<b>8.29<sup>ab</sup>±0.16</b>	0.13 <sup>b</sup> ±0.01	<b>0.37<sup>a</sup>±0.01</b>
p-value	0.247	0.038*	0.004*	0.030*

3

Protección anti  
inflamatoria

Biomarcadores

↓ Transaminasas

↓ PCR

La inflamación: respuesta inespecífica del sistema inmune

La inflamación persistente provoca inflamación crónica

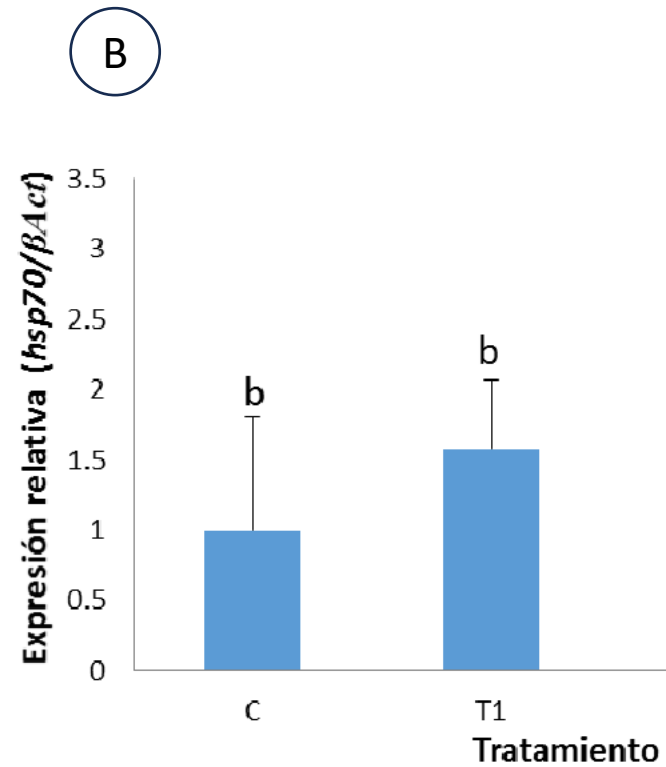
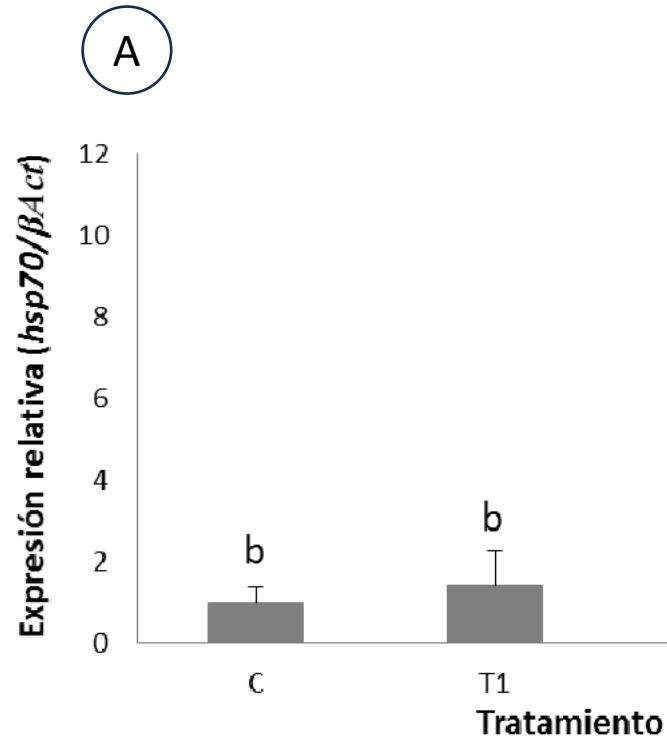
Biomarcadores de la respuesta inflamatoria

1. PCR
2. TRANSAMINASAS
3. ALBÚMINA
4. MIELOPEROXIDASA
5. CITOQUINAS

Universidad Illorin Nigeria  
Biomarcadores de inflamación

		Parámetros							
		ALT (U L <sup>-1</sup> )		AST (U L <sup>-1</sup> )		ALP (U L <sup>-1</sup> )		PCR(mg mL <sup>-1</sup> )	
Dieta	Pre-desafio	Post-desafio	Pre-desafio	Post-desafio	Pre-desafio	Post-desafio	Pre-desafio	PD	
Control	50.17 <sup>a</sup> ±2.77	63.72 <sup>a</sup> ±3.18	20.34±3.44	101.62±3.65	49.56±1.68	54.94±1.42	1.29 <sup>a</sup> ±0.08	1.49 <sup>a</sup> ±0.17	
Nutracéutico	<b>27.44<sup>b</sup>±1.59</b>	66.00 <sup>a</sup> ±3.33	12.84±3.78	93.43±7.28	49.68±1.36	56.89±0.14	<b>0.89<sup>b</sup>±0.06</b>	<b>0.89<sup>b</sup>±0.05</b>	
p-value	0.010*	0.035*	0.407	0.156	0.993	0.216	0.004*	0.046*	

Universidad Baja California  
Expresión proteína shock térmico



Las proteínas shock térmico ayudan a proteger las células del estrés



4

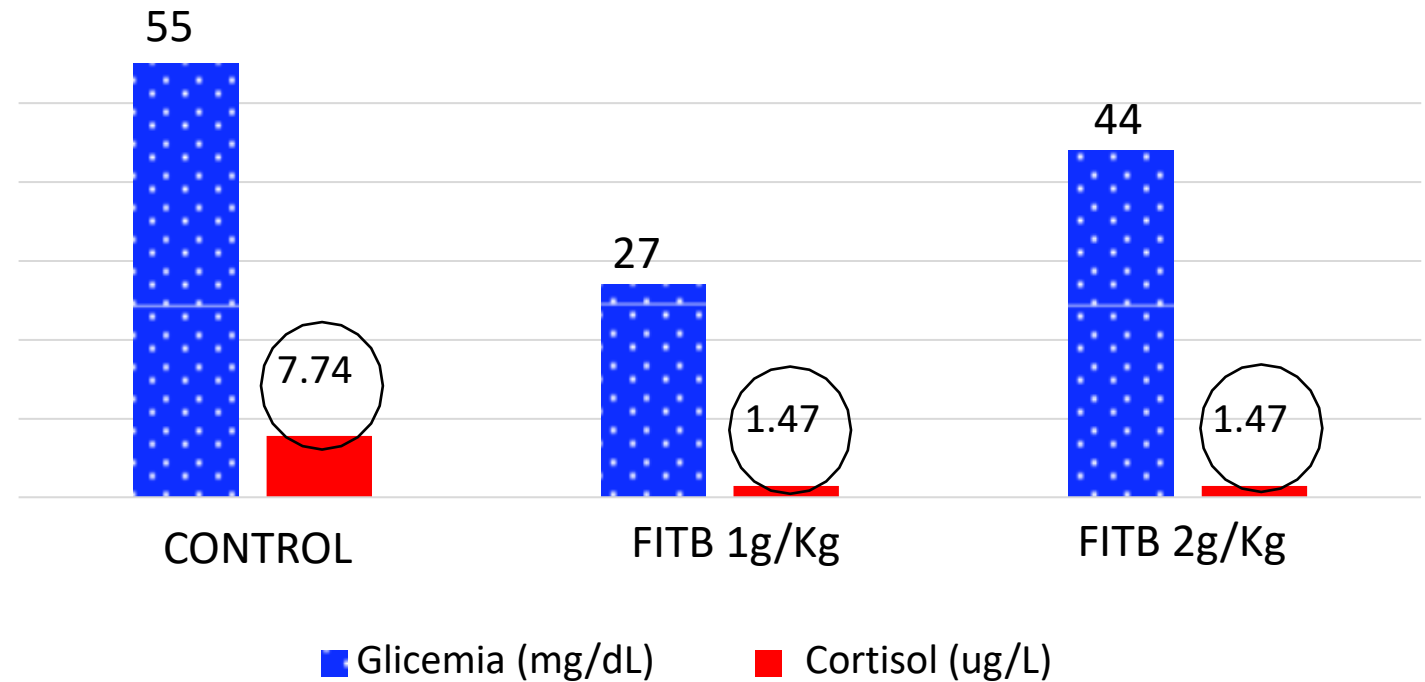
Efecto antiestrés  
Reducción de cortisol y  
glucosa

Riesgo de cortisol elevado en el tiempo

- Descenso de leucocitos
- Inmunodeficiencia
- Inflamación

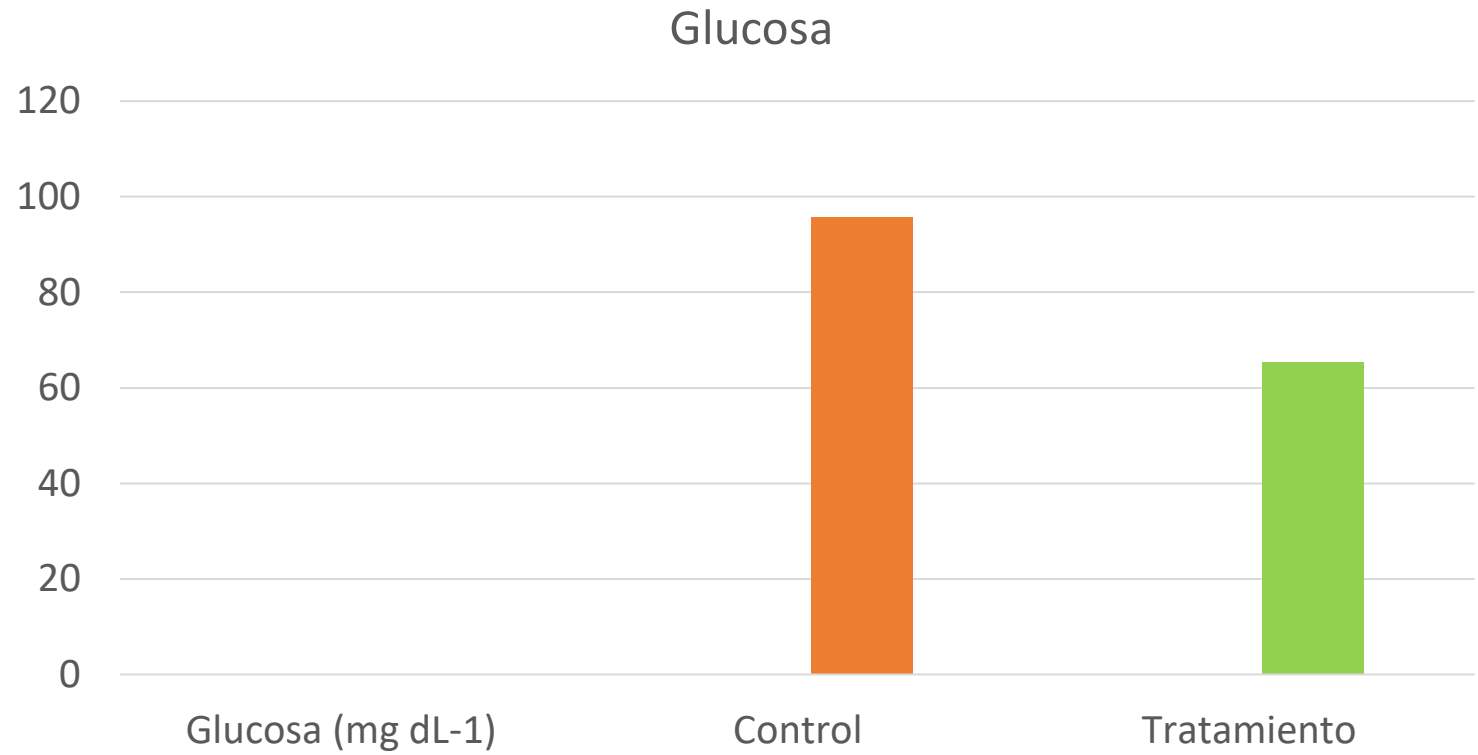
La dieta nutracéutica logró menor liberación de cortisol y glucosa

Ensayo industrial Perú  
Tilapia del Nilo  
Control y dieta  
nutracéutica a dos dosis  
1g/Kg y 2 g/Kg  
90 días ensayo  
16 días ayuno por riadas



Glucosa y cortisol (valores basales). Influencia sobre el estrés primario

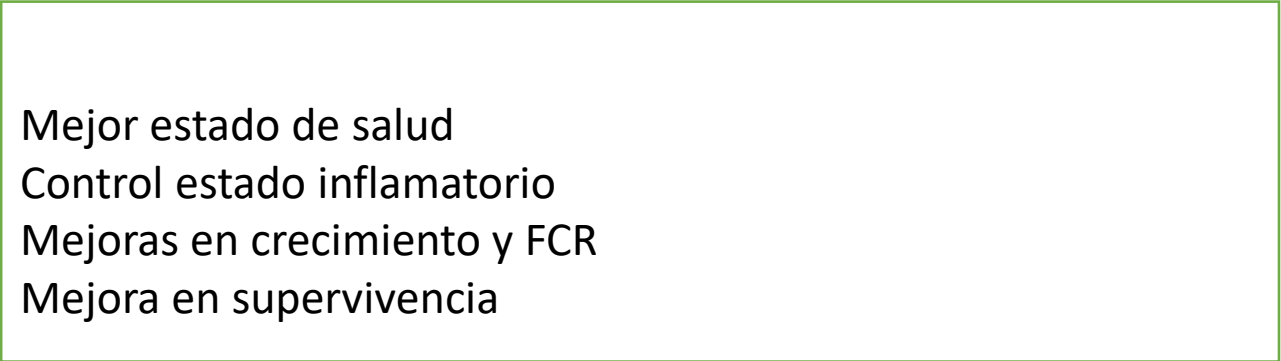
Universidad Baja California  
México. 2022  
Glucosa mg dL.1





5

Mejora zootécnica



- Mejor estado de salud
- Control estado inflamatorio
- Mejoras en crecimiento y FCR
- Mejora en supervivencia

# MEJORAS ZOOTÉCNICAS

Dietas			
Parámetros	Control	Nutracéutico 1 g/Kg	p-value
Peso inicio (g)	13.21±0.03	13.17±0.03	0.859
Peso final (g)	18.16 <sup>b</sup> ±0.35	20.40 <sup>a</sup> ±0.80	0.021
Ganancia(g)	4.92±0.35	7.21 <sup>ab</sup> ±0.85	0.025
SGR (%/day)	0.70±0.04	0.97 <sup>ab</sup> ±0.09	0.024
FCR	2.56 <sup>a</sup> ±0.15	1.87 <sup>b</sup> ±0.12	0.038

ILLORIN NIGERIA

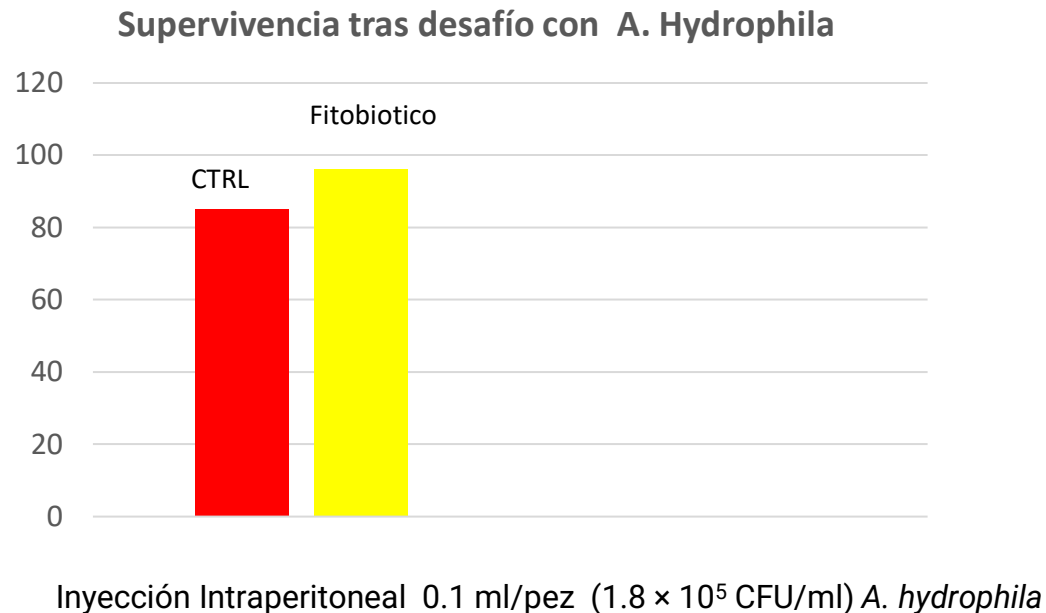
Tanque	Dias	Peces	P. inicio (g)	Alimento (Kg)	Biomasa (Kg)	Ganancia (Kg)	FCR	SGR
Control	1	42661	56	3040	2379	1669	1,82	0,629
	90				4048			
Nut. 1g/Kg	1	44782	68	3060	3044	2519	1,61	0,692
	90				5563			
Nut. 2g/Kg	1	46479	46	4460	2141	2907	1,53	0,981
	90				5048			

INDUSTRIAL PERÚ

Tanque	P. Inicio	P.final	Ganancia	SGR	Supervivencia	
Control		1,47	112	110,5	4,98	95,83
Nutracéutico 0,5 g/kg		1,47	132,9	131,48	5,17	95

UB CALIFORNIA MÉXICO

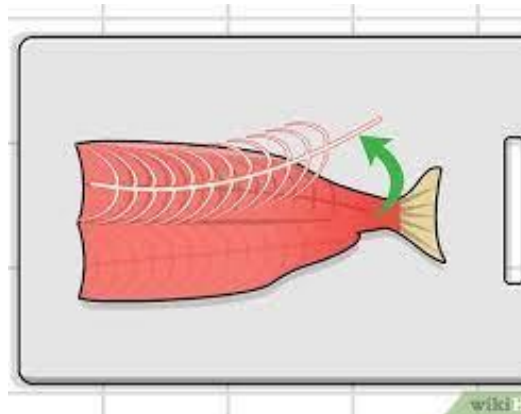
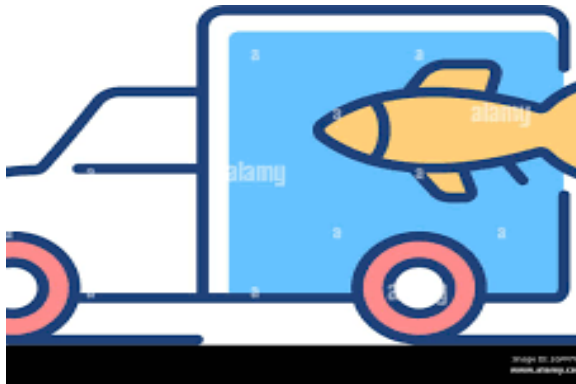
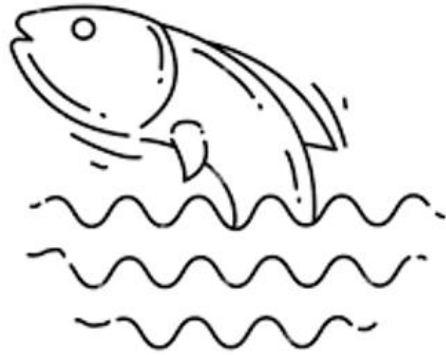
# Supervivencia tras desafío con *A. Hydrophila*



La tasa de supervivencia tras desafío de *Aeromonas hydrophila* registrada a los tres días post infección mostró mayor supervivencia en los peces alimentados con dieta con nutracéutico (96%) que en los peces control.

La elevada supervivencia en el lote de peces con fitobiótico tras el desafío de *Aeromona hydrophila* podría asociarse con el efecto antioxidante y la respuesta inmune que induce el producto.

La respuesta inmune de los peces alimentados con dieta nutracéutica puede aumentar la protección frente a enfermedades bacterianas.



## Aplicaciones

- Mejora de salud y efecto antiestrés  
uso continuo: 500 g - 1 Kg/Tm  
Alimento
- Vacunación: 30 días antes y  
después 1kg/Tm alimento. Mejora  
respuesta inmune
- Transporte: 15 días antes 1 kg/Tm  
alimento. Mejor adaptación y  
supervivencia
- Recuperación peces tras  
enfermedad/ debilidad: 45 días 1 kg  
/tm alimento
- Mejora pigmentación: uso  
continuo 1 kg/Tm alimento

Inmunomodulación y efecto  
antinflamatorio.

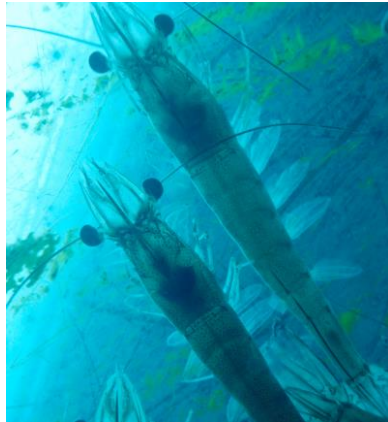
Uso de un nutracéutico en  
camarón (*Litopenaeus  
vannamei*)





## Dieta nutracéutica camarón

Dosificación nutracéutica 0,5-1 g/alimento *on top*



### 1.- Parámetros zootécnicos

Mejora significativa respect a dieta control



### 2. Salud & inmunidad

- Mejor status de salud (menor recuento *Vibrio* in HP e intestino)
- Mejor Sistema inmune (Mejora significativa actividad fenoloxidasa y hemocitos)
- Mayor nivel de proteína en hemolinfa
- Mejor reserva lipídica



### 3.- Pigmentación

- Mejora significativa tras hervido
- Efecto antioxidante del nutracéutico preservando los pigmentos



### 4.- *Vibrio* desafio

- Mayor tasa de supervivencia

## Evaluación parámetros zootécnicos sin desafío



Crecimiento	Periodo	control	Nutrceut..	P-value
Producción (g/acuario)	0sem.	52.3	52.2	0.938
	2sem.	76.1 <sup>b</sup>	82.9 <sup>a</sup>	<0.001
	4sem.	123.9 <sup>b</sup>	134.5 <sup>a</sup>	0.013
	6sem.	172.3 <sup>b</sup>	186.5 <sup>a</sup>	0.002
	8sem.	235.1 <sup>b</sup>	261.3 <sup>a</sup>	0.001
Número (ind./tanque)	0sem.	25.00	25.00	.....
	2sem.	3.12 <sup>b</sup>	3.34 <sup>a</sup>	0.008
	4sem.	5.21 <sup>b</sup>	5.56 <sup>a</sup>	0.015
	6sem.	7.49 <sup>b</sup>	7.90 <sup>a</sup>	0.014
	8sem.	10.59 <sup>b</sup>	11.37 <sup>a</sup>	0.014
Peso (g/ind.)	2sem.	1.03 <sup>b</sup>	1.26 <sup>a</sup>	0.001
	4sem.	3.11 <sup>b</sup>	3.47 <sup>a</sup>	0.014
	6sem.	5.40 <sup>b</sup>	5.82 <sup>a</sup>	0.005
	8sem.	8.50 <sup>b</sup>	9.28 <sup>a</sup>	0.006
Ganancia (g/ind.)	2sem.	0.07 <sup>b</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.001
	4sem.	0.11 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.014
	6sem.	0.13 <sup>b</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.005
	8sem.	0.15 <sup>b</sup>	0.17 <sup>a</sup>	0.006
Ganancia día (g/ind/d)	2sem.	0.07 <sup>b</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.001
	4sem.	0.11 <sup>b</sup>	0.12 <sup>a</sup>	0.014
	6sem.	0.13 <sup>b</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.005
	8sem.	0.15 <sup>b</sup>	0.17 <sup>a</sup>	0.006

+ 11%

+ 7.4%

+ 9 %

+ 13 %

SGR (%/d)	2sem	2.86 <sup>b</sup>	3.37 <sup>a</sup>	0.004
+ 4 %	4sem.	3.26 <sup>b</sup>	3.50 <sup>a</sup>	0.05
	6sem.	3.04 <sup>b</sup>	3.17 <sup>a</sup>	0.016
	8sem.	2.90 <sup>b</sup>	3.03 <sup>a</sup>	0.001
	Consumo alimento (g/ind)	2sem.	1.64 <sup>ab</sup>	1.61 <sup>b</sup>
+ 13 %	4sem.	4.20 <sup>ab</sup>	4.14 <sup>b</sup>	0.025
	6sem.	7.05 <sup>ab</sup>	6.87 <sup>c</sup>	0.007
	8sem.	11.23 <sup>a</sup>	10.85	0.005
	Feed conversión ratio	2sem.	1.60 <sup>a</sup>	1.28
+ 3.6 %	4sem.	1.35 <sup>a</sup>	1.20 <sup>b</sup>	0.016
	6sem.	1.31 <sup>a</sup>	1.18	0.001
	8sem.	1.32 <sup>a</sup>	1.17 <sup>b</sup>	0.001
	Supervivencia (%)	8week	88.80 <sup>b</sup>	92.00 <sup>a</sup>

Mejoras significativas en crecimiento, peso, ganancia peso, ganancia diaria SGR y FCR.  
Mejoras no significativas en mortalidad en ausencia de desafío.

## Salud e inmunidad



	Periodos	CTRL	Nutracéutico	
Recuento de hemocitos (X10 <sup>5</sup> cell/ml)	8wks	42.40 <sup>a</sup>	50.00 <sup>a</sup>	+ 78 %
Proteína(g/dL) hemolinfa	8wks	3.85 <sup>b</sup>	4.20 <sup>a</sup>	
Actividad fenolaxidasa (unit/min/mg Proteína)	8wks	46.13 <sup>b</sup>	82.36 <sup>a</sup>	<0.001
Lisozima (unit/ml)	8wks	169.00	139.00	0.734
SOD (unit/ml)	8wks	73.62	69.32	0.114
Glutation (nMole/ml)	8wks	31.90	32.62	0.232
Glucógeno(mg/g tissue)	8wks	2.44	2.83	<0.001
Lípidos hepatopáncreas (%)	8wks	1.04 <sup>b</sup>	1.89 <sup>a</sup>	- 42,3%
Total recuento Vibrio en hemolinfa (Log cfu/ml)	8wks	0.00	0.00	
Total recuento Vibrio hepatopáncreas (Log cfu/ml)	8wks	3.70 <sup>a</sup>	2.60 <sup>b</sup>	<0.001
Total, recuento Vibrio intestino (Log cfu/ml)	8wks	3.89 <sup>a</sup>	3.01 <sup>b</sup>	- 29,23 %

Mejoras significativas: actividad fenolaxidasa y reducción vibrios en hepatopáncreas e intestino.

Mejoras no significativas en recuento hemocitos, proteína hemolinfa, glucógeno y lípidos en hepatopáncreas

## Desafío *V. Parahemoliticus*



Tasa de supervivencia tras desafío por inmersión *Vibrio parahemoliticus*  $3.2 \times 10^6$  cfu/ml durante 10 días

Supervivencia	Desafío	CTRL	Nutrc.	P-value
Día 0	V.para	100.00	100.00	...
Día 1	V.para	100.00	100.00	....
Día 2	V.para	96.67	100.00	0.441
Día 3	V.para	93.33	100.00	0.219
Día 4	V.para	86.67	96.67	0.095
Día 5	V.para	86.67	96.67	0.119
Día 6	V.para	83.33	90.00	0.219
Día 7	V.para	76.67	90.00	0.052
Día 8	V.para	70.00	86.67	0.071
Día 9	V.para	63.33	80.00	0.007
Día 10	V.para	60.00 <sup>b</sup>	76.67 <sup>a</sup>	0.080

Mejora significativa mortalidad

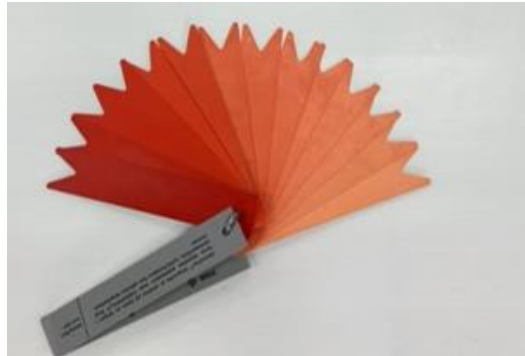


# PIGMENTACIÓN

Shrimp color	Periods	CONTROL	Nutraceutico	P-value
L	8sem.	64.24	60.07	0.296
a	8sem.	8.33	14.93	<0.001
b	8sem-	17.04 <sup>b</sup>	21.34 <sup>a</sup>	0.044
SalmoFan	8sem.	21.0	22.0	0.220



CTRL



Diferencias en intensidad de color tras cocción



Nutraceutico

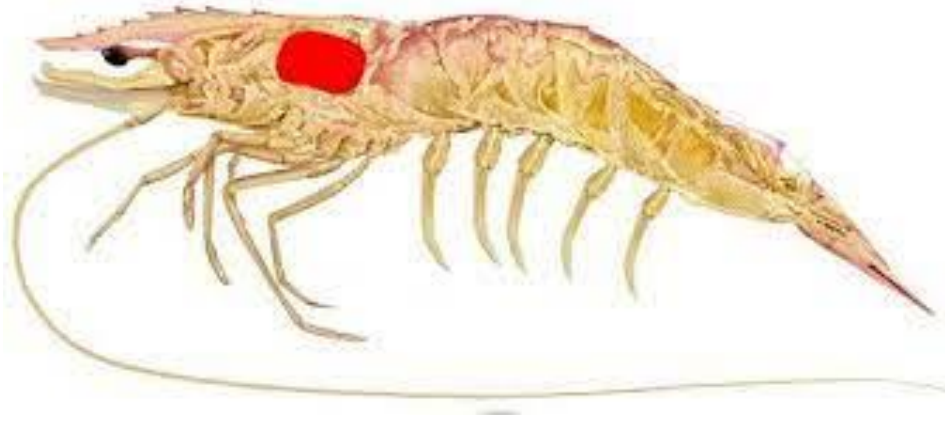
**Mejora significativa** coloración debido a un mejor estado sanitario, menor estrés oxidativo y mejor estado sistema inmune

L = Ligeramente brillante

a\* = Por encima de color rojo

b\* = por encima de color Amarillo con Tendencia a rojizo

## HISTOLOGIA HP E INTESTINO



- Células R principal lugar para el almacén lipídico. Marcador de salud
- Células B principal lugar de síntesis de enzimas digestivas y antioxidantes
- Células F responsable de la síntesis proteica y almacén mineral
- Células E localizadas en parte distal de los túbulos del HP

Las Células B presentaron mayor longitud que las del lote control.

- **Histología Intestinal:** Ibooster mostró mayor densidad y longitud de vellosidades en comparación con el lote control.

Gracias por su  
atención

Alvaro Rodríguez Sánchez-Arévalo  
D.V.M Liptosa. España  
[ara@liptosa.com](mailto:ara@liptosa.com)

