EFECTO DE LA ALIMENTACION ENERGETICA SOBRE LA RESPUESTA DEL SISTEMA INMUNE FRENTE A PARASITOS EN EL PERIPARTO OVINO

J. Valderrábano, J. Uriarte
Servicio de Investigación Agroalimentaria, Diputación General de Aragón.
Apdo. 727, 50080 Zaragoza. E-mail: J. Valderrabano@aragob.es

RESUMEN

El papel de las reservas grasas almacenadas durante las primeras fases de la gestación sobre la respuesta del sistema inmune frente a nemátodos gastrointestinales en el periparto se estudió en 46 ovejas F1 Romanov x Rasa Aragonesa que fueron sometidas a 3 niveles de alimentación (*ad libitum* (A), mantenimiento (M) y 0.7M (B)) para conseguir unos niveles de reservas corporales bien diferenciados en la semana 13 de gestación. A partir de la 5ª semana antes del parto los animales fueron infectados artificialmente con 5.000 L3/semana (40% ***Teladorsagia circumcincta***, 40% ***Trichostrongylus colubriformis*** y 20% ***Haemonchus contortus***). Un cuarto grupo de ovejas (C) se mantuvo como lote control sin parasitar.

El conteo de huevos de parásitos en las heces, utilizado como medida de la resistencia a la infección, se vió significativamente afectada por el tratamiento nutricional establecido durante las primeras fases de la gestación. Esta respuesta apareció acompañada por un efecto significativo en la concentración de eosinófilos circulantes que aumentó con el plano de alimentación. A pesar de que los tratamientos M y C estuvieron sometidos al mismo plano de alimentación, los corderos de las ovejas infectadas crecieron menos que aquellos criados por el grupo control sin infectar (190 vs. 213 g/d) que asimismo mostró una mayor movilización de sus depósitos adiposos. Sin embargo, las ovejas alimentadas *ad libitum* fueron capaces de superar las consecuencias de la infección y sus corderos crecieron al mismo ritmo que las no infectadas.

Los resultados obtenidos indican que la cantidad de grasa almacenada durante los primeros estadios de la gestación está involucrada en la expresión de la inmunidad frente a parasitos gastrointestinales en torno al parto y sugieren que podría afectar a la producción de leche como un medio para mantener los mecanismos inmunológicos preparados para futuros procesos infectivos.Estos resultados tienen claras implicaciones en sistemas de pastoreo, particularmente en el manejo de la alimentación durante las primeras fases de la gestación y constituyen una herramienta fácilmente aplicable en sistemas de manejo sostenible.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la excreción de huevos de nematodos gastrointestinales en torno al parto, conocido con el nombre de "periparturient rise" (PPR), ha sido considerado como uno de los fenómenos más importantes en la epidemiología de la gastroenteritis parasitaria porque asegura la contaminación masiva de los pastos en un período en que hay animales jóvenes, particularmente sensibles a la infección (Lloyd, 1983). Las consecuencias del PPR en la sucesiva infección de los animales es tan manifiesta que la desparasitación de las ovejas en torno al parto constituye una medida recomendada en la mayoría de los programas de control (Michel, 1985; Taylor et al., 1990; Juste y García, 1991)

La necesidad de reducir la utilización de antiparasitasios en los actuales sistemas de producción, ha motivado en los últimos años un interés creciente por conocer las causas que

originan el PPR y por desarrollar métodos no quimioterapéuticos que lo limiten. En este sentido, el estado nutritivo del huésped ha sido considerado desde hace tiempo como un factor importante en la relación huésped-parásito y la patogénesis de las infecciones parasitarias. Sin embargo, el papel que juega el nivel de la alimentación tanto proteica (Kyriazakis et al., 1996) como energética (Donaldson et al., 1998) en la expresión de la inmunidad no está claro pero su conocimiento es crítico para la prevención y el control de las parasitosis. Trabajos recientes han puesto en evidencia el papel del tejido adiposo no sólo en el metabolismo y esteroidogenesis sino también en la respuesta del sistema inmune (Matarese, 2000). El hecho de que la respuesta inmune pueda estar modulada por la energía de la dieta ofrece grandes posibilidades para mejorar la resistencia a las infestaciones por procedimientos compatibles en un sistema sostenible.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar en que medida el nivel de reservas corporales acumuladas en las primeras fases de la gestación podría afectar a la inmunodepresión frente a nematodos gastrointestinales observada en el periparto ovino.

MATERIAL Y METODOS

El ensayo se realizó con 66 ovejas Romanov x Rasa Aragonesa que habían sido tratadas con esponjas vaginales que contenían 40 mg de acetato de progesterona (Crono Gest® Intervet S.A.) para sincronizar el celo. Cinco semanas después de la cubrición, se realizó un diagnóstico de gestación y atendiendo a nº de fetos, peso (PV) y condición corporal (CC) se seleccionaron 46 ovejas gestantes que fueron desparasitadas con Fenbendazole (Panacur® Hoeschst Roussel) y alojadas en jaulas individuales con suelo de rejilla. Tras una semana de adaptación los animales fueron distribuidos en cuatro lotes, tres de ellos (A, M y B) de 12 y el cuarto que actuó como control (C) de 10 animales, a los que se ofreció granulo de alfalfa *ad libitum* (A), a mantenimiento (M y C) o a 0,7 mantenimiento (B) a fin de conseguir unos niveles de reservas corporales bien diferenciados al día 90 de gestación, a partir del cual todos los animales recibieron la misma cantidad de alimento en relación a su PV a la cubrición.

Entre la 5ª semana antes del parto y la 3ª semana después de parir, todos los animales de los lotes A, M y B, fueron infectados artificialmente a intervalos semanales con 5.000 larvas de ***Teladorsagia circumcincta*** (40%), ***Trichostrongylus colubriformis*** (40%) y ***Haemonchus contortus*** (20%). Las infecciones se realizaron en días alternos y de forma monoespecífica.

A intervalos de dos semanas se determinaron el PV, la CC (Russel et al., 1969) y el espesor de la grasa en el cuadrado lumbar mediante ultrasonidos (Delfa et al., 1995). A partir del comienzo de las infecciones y hasta cinco semanas después de los partos, los controles se efectuaron semanalmente, tomándose además muestras de sangre para determinar la formula leucocitaria y los niveles de pepsinógeno sérico , así como de heces para valorar la excreción de huevos de cada animal por el método de McMaster modificado por Raynaud (1970) y la proporción de géneros por coprocultivo.

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza de medidas repetidas usando el procedimiento GLM (SAS Institute, Inc. 1998). Previamente a los análisis, los datos de eliminación de huevos se normalizaron mediante transformación logarítmica log (x + 1). Para los datos expresados en porcentaje la transformación fue arcoseno x/100.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los gránulos de alfalfa ofrecidos presentaron un contenido en PB del 18,14% de la MS y un contenido energético de 7,59 MJ de EM/kg fresco. Las ingestiones medias entre las semanas 5 a 14 fueron de 51, 17 y 11,3 g/kg PV para los tratamientos (A), (M y C) y (B) respectivamente, lo que conllevó unas diferencias notables (P<0,001) en PV, espesor de la grasa dorsal (Fig. 1) y CC al inicio del 4° mes de gestación.

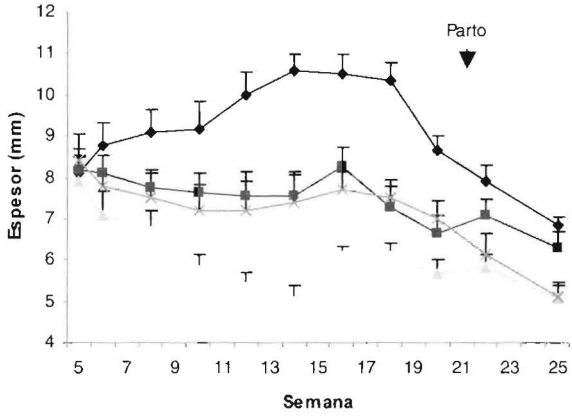


Figura 1. Evolución del espesor de la grasa dorsal a lo largo del ensayo

El tratamiento nutritivo establecido durante las primeras semanas de gestación mostró un efecto significativo (P<0,01) sobre el numero de huevos de parásitos en las heces (Epg) que aumentaron inversamente con el plano de alimentación a pesar del hecho de que el tratamiento fuera interrumpido 3 semanas antes de la infección. Este efecto duró hasta 3 semanas después del parto cuando las diferencias en Epg entre los tratamientos desaparecieron (Fig 2). Puesto que todos los animales estaban en un plano de alimentación idéntico cuando tuvo lugar la infección, esta respuesta diferencial en Epg podría estar asociada a una diferente respuesta inmune de las ovejas. La evolución de la concentración de eosinófilos circulantes (CEO), considerado como un mecanismo efector inmunológico, refrenda esta hipótesis. Mientras que la concentración de CEOs en el grupo control sin parasitar permaneció prácticamente constante a lo largo de todo el ensayo, como cabía esperar, este parámetro se incrementó significativamente (p<0,002) el los lotes parasitados (Fig 3). Esta respuesta apareció relacionada con el plano de alimentación previamente establecido aumentando los CEOs con el plano de alimentación. Esta respuesta inmune diferencial apareció asociada al nivel de alimentación establecido en las primeras fases de la gestación que dio lugar a importantes diferencias en el espesor de la grasa dorsal. La estimación de esta medida mediante ultrasonidos es un procedimiento preciso para establecer la grasa subcutánea en el cuadrado lumbar (Delfa et al., 1991) que, a su vez, está altamente correlacionada (r = 0,97) con la grasa total corporal (Delfa el at., 1989). Esto sugiere que la cantidad de grasa corporal podría estar asociada con la diferente respuesta inmune observada en el periparto.

Aunque algunos trabajos han encontrado un efecto positivo de la suplementación energética sobre la excreción de huevos parásitos (García Pérez et al., 1994; Ferre et al., 1995), otros estudios (Donaldson et al.,1998; Houdjik et al., 2001) concluyen que la

resistencia del huésped en torno al parto esta mucho mas influida por la alimentación proteica que por la energética cuando las ovejas eran suplementadas al final de la gestación y principios de la lactación. Los resultados del presente ensayo indican que la suplementación energética durante las primeras semanas de gestación aumentan las reservas grasas en el momento de la infección y tales reservas tienen un claro efecto sobre la subsiguiente respuesta inmune. La diferencia en el momento de la suplementación podría explicar estos resultados aparentemente contradictorios. Aunque la suplementación proteica puede tener un efecto directo sobre la respuesta inmune (Donaldson et al.,1998; Houdjik et al., 2001), los mecanismos involucrados en los efectos de la proteína sobre la partición de nutrientes entre tejidos corporales y leche (Oldham y Alderman, 1982) podrían también jugar un papel importante en la respuesta inmune observada en ovejas suplementadas con proteína. Esto resulta acorde con los resultados de Koski et al., (1999) que concluyeron que eran necesarias restricciones mas severas de proteína que de energía en la dieta para deprimir la expresión de la inmunidad.

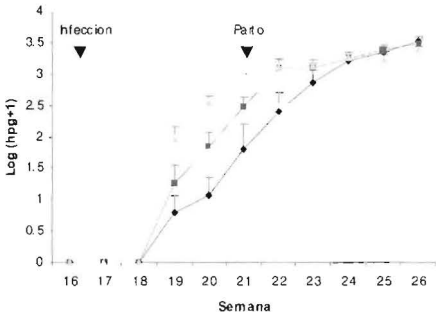


Figura 2: Evolución de la excreción de huevos a lo largo del período experimental.

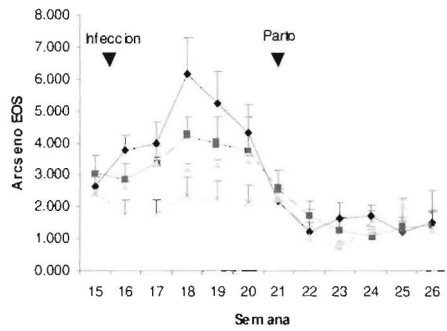


Figura 3: Evolución de la concentración de eosinófilos tras las infecciones.

De modo alternativo, los depósitos adiposos podrían jugar un papel en si mismos. Durante los últimos años, están aumentando las evidencias que indican que la leptina, una proteína producida por el tejido adiposo, juega un papel decisivo señalando que las reservas grasas son suficientes (Campfield et al., 1995) actuando, asimismo, como un regulador destacado de la actividad del sistema inmune, relacionando las funciones de los linfocitos T con el status nutricional al actuar directamente sobre las funciones de las células $CD4^{+}T$ (Lord et al., 1998) y afectando indirectamente sobre la presencia de otras hormonas (Ahima et al., 1996). Estos resultados dan al tejido adiposo un papel claro no sólo en el metabolismo y esterogenesis sino también en la respuesta inmune (Matarese, 2000).

La evolución tanto del peso vivo como de las reservas corporales de las ovejas resultó acorde con los tratamientos nutritivos establecidos. Alrededor de los 90 dias de gestación, la diferencia en el espesor de la grasa dorsal entre los animales alimentados *ad libitum* y con dietas restringidas alcanzaron su máximo valor. Tanto las ovejas infectadas como las testigo alimentadas a mantenimiento al inicio de la gestación presentaron valores intermedios y muy constantes hasta el final de la gestación cuando el espesor de la grasa dorsal empezó a decrecer. Sin embargo, a pesar del hecho de ambos tratamientos se mantuvieron en el mismo

regimen alimenticio su subsiguiente producción de leche difirió significativamente y los corderos de los animales infectados crecieron menos que los de las no parasitadas. Estos resultados concuerdan con trabajos previos (Leyva et al., 1982; Thomas y Ali, 1983) en los que se señalaba el efecto negativo de las parasitosis sobre la producción de leche. Resulta interesante que la diferencia en el crecimiento de los corderos criados por estos dos grupos de ovejas no estuviera relacionado con la cantidad de grasa corporal de las ovejas al momento del parto sino con el hecho de que las infectadas no la movilizaran durante la lactación. La menor capacidad de movilización de reservas grasas exhibida por los animales infectados podría responder a una "memoria" de infección que las haría ser mas conservadoras en la producción de leche manteniendo un cierto nivel de reservas para poder afrontar el siguiente periodo de infección. La reducción del crecimiento de los corderos y la capacidad de movilización de reservas no parece ser una respuesta directa a la infección puesto que esta respuesta no se manifestó en ovejas alimentadas *ad libitum* al inicio de la gestación. A partir del parto, tanto las ovejas alimentadas *ad libitum* como las no parasitadas mostraron una caida similar en el espesor de la grasa dorsal que fue significativamente mayor que la registrada en los otros dos tratamientos. Esta reducción en el espesor de la grasa dorsal apareció asociada a una diferencia significativa en el crecimiento de los corderos (213 vs 190 g/d) lo que sugiere una movilización de las reservas corporales para cubrir las demandas de producción de leche. La elevada cantidad de grasa acumulada por las ovejas alimentadas *ad libitum* les permitió producir unos niveles de leche próximos a su potencial, posiblemente hasta un umbral a partir del cual la capacidad de reacción de su sistema inmune podría estar en riesgo.

Los resultados de este trabajo muestran que la cantidad de grasa total almacenada por las ovejas durante las primeras fases de la gestación está involucrada en la expresión de la inmunidad frente a parásitos gastrointestinales en torno al parto y sugiere que podría afectar a la producción de leche para mantener los mecanismo inmunológicos preparados para futuros procesos infecciosos. Mas aún, la reducción en la producción de leche observada en las ovejas infectadas puede ser subsanado con una alimentación energética *ad libitum* durante las primeras semanas de gestación. Estos resultados tienen claras implicaciones en animales en pastoreo, en particular en el manejo de la alimentación durante los primeros estadios de la gestación y proporcionan una herramienta fácilmente aplicable en sistemas de manejo sostenible.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a F. Lahoz, A. Guillén, J.A. Tanco y E. Morago la ayuda técnica prestada en el desarrollo de este trabajo. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los Proyecto FAIR 3 CT 96 – 1485 y INIA SC00-060.

REFERENCIAS BIBLIOGÁFICAS

Ahima, R.S., Prabakaran, D., Mantzoros, C., Qu, D., Lowell, B., Maratos Flier, E. and Flier, J.S. 1996. *Nature* 382:250-252.

Campfield, L.A., Smith, F.J., Guisez, Y., Devos, R. and Burn, P.1995. *Science* 269: 546-549.

Delfa, R., Teixeira, A., Gonzalez, C., 1995. Proc. 46th Meet. EAAP, Praga.

Donaldson, J., van Houtert, M.F.J., Sykes A.R., 1998. Anim. Sci., 67: 523-533.

Ferre, I., Brusa, C.M., Manzanera, E., Rojo-Vazquez, F.A., Buratovich, O.F. and Mantecon, A.R. 1995.. *Journal of Animal Feed Sciences* 4: 237-245.

Garcia-Perez, A.L., Oregui, L.M., Bravo, M.V., Muñoyerro, A., Povedano, I. and Juste R.A. 1994.. *ITEA* 90 A: 139-147.
Houdijk, J.G.M., Kyriazakis, I., Coop, R.L. and Jackson, F. 2001. *Parasitology* 122: 661-672.
Juste, R.A., García, A.L., 1991. Vet. Parasitol., 38: 173-183.
Kyriazakis, I., Anderson, D.H., Coop, R.L., Jackson, F.1996. Vet.Parasitol.,65: 41-54.
Koski, K.G., Su, Z. and Scott, M.E. 1999. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 264: 796-801.
Leyva, V., Henderson, A.E. and Sykes, A.R. 1982. *Journal of agricultural Science, Cambridge* 99: 249-259.
Lloyd, S. 1983. Vet. Immunol. Immunopathol. 4:153-176.
Lord, G.M., Matarese, G., Howard, J.K., Baker, R.J., Bloom, S.R. and Lechler, R.I. 1998. *Nature* 394: 897-
Matarese, G. 2000. *European Cytokine Network* 11: 7-13.
Michel, J.F., 1985. Parasitol., 90: 621-628.
Oldham, J.D. and Alderman, G. 1982.. In *Protein and Energy Supply for High Production of Milk and Meat* pp. 33- 63. Pergamon Press, Oxford.
Raynaud, J.P., 1970. Ann. Parasitol. Hum.Comp., 45:321-342.
Russel, A.J.F., Doney, J.M., Gunn, R.G. 1969. J. Agric. Sci., Camb. , 72: 451-454.
Taylor, M.A., Hunt, K.R., Wilson, C.A., Quick, J.M., 1990. Vet. Rec., 126: 555-556.
Thomas R.J. and Ali, D.A. 1983. *International Journal for Parasitology* 13: 393-398.