

## **EL ÁCIDO CARNÓSIDO INCLUIDO EN LA DIETA DE CORDEROS DE CEBO MODIFICA PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y DE LA RESPUESTA INMUNE**

Morán, L.\*, Andrés, S., Bodas, R., Prieto, N., Pérez, V. y Giráldez, F. J.  
Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas, E-24346 Grulleros, León,  
España.

\*Correo e.: laramoran@eae.csic.es.

### **INTRODUCCIÓN**

Los compuestos fenólicos son un grupo de metabolitos secundarios de las plantas que se utilizan en alimentación animal para mejorar la calidad de los productos (carne y leche) debido a las propiedades antioxidantes que les son atribuidas. No obstante, está creciendo el interés por estos compuestos ya que también se ha comprobado que tienen capacidad para modular la respuesta inmune (Molinari et al., 2009; Bhattacharyya et al., 2010) y, por tanto, podrían tener efectos sobre el bienestar animal. En este sentido, actualmente se está estudiando la capacidad del ácido carnósido (diterpeno de la planta del romero) administrado en la ración de los animales de abasto para mejorar la calidad de los productos de origen animal. Sin embargo, no existen estudios que hayan abordado la capacidad inmunomoduladora del ácido carnósido en este tipo de animales.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar el efecto del ácido carnósido sobre los parámetros hematológicos y sobre la producción de gamma-interferón (indicador de la respuesta inmune celular, Th1) cuando se incluye en la alimentación de corderos a dos dosis distintas, así como comparar el efecto del ácido carnósido con el de la vitamina E, compuesto capaz de modular la respuesta inmune.

### **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 32 corderos de raza Merina (peso vivo medio (PV)  $15,2 \pm 0,75$  kg) alojados individualmente y alimentados con un pienso comercial ( $35 \text{ g kg}^{-1}$  PV día<sup>-1</sup>) y paja de cebada ( $200 \text{ g día}^{-1}$ ). Dichos corderos fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos experimentales: un grupo control (CONTROL) que consumía un pienso formulado sin vitamina E ni selenio (50% cebada, 20% soja, 15% maíz, 8% trigo, 4% melaza y 3% suplemento mineral); otro grupo (VITE006) que recibió un aporte extra de vitamina E en el pienso ( $0,6 \text{ g vitamina E kg}^{-1}$  de concentrado) y otros dos grupos que fueron suplementados con ácido carnósido. Para comparar el efecto de la vitamina E con el del ácido carnósido el tercer grupo recibió la misma dosis de ácido carnósido ( $0,6 \text{ g carnósido kg}^{-1}$  de concentrado, CARN006). El último grupo recibió una dosis doble de ácido carnósido ( $1,2 \text{ g ácido carnósido kg}^{-1}$  de concentrado, CARN012) para clarificar si existe un efecto dosis-dependiente de este compuesto. Tras 5 semanas consumiendo las dietas experimentales se extrajeron 2 muestras de sangre de cada cordero: una de ellas se recogió en un tubo con EDTA que se empleó para realizar los análisis hematológicos (Cellanalyzer CA530, Bromma, Sweden); la otra se recogió en otro tubo con heparina para medir la producción de gamma-interferón ( $\gamma$ -INF) tras la incubación de las células sanguíneas con el mitógeno fitohemaglutinina según una modificación del método descrito por López-Campos et al. (2010).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la Tabla 1 se presentan los resultados hematológicos de la serie roja de los corderos tras haber consumido las respectivas dietas experimentales. Aunque el recuento de hematíes es similar en todos los grupos, éstos tienen mayor tamaño (VCM y hematocrito más elevados) y una menor concentración de hemoglobina (CMHC más baja) en los grupos CARN012 y VITE006 cuando se comparan con el grupo CONTROL. Estos datos indicarían la existencia de un número más elevado de eritrocitos inmaduros circulantes en los animales que consumen estas dietas, lo que estaría en consonancia con una anemia leve regenerativa (la médula ósea funcionaría correctamente) causada por interferencias entre el

hierro y los compuestos (vitamina E y ácido carnósico) administrados en la ración. En todo caso, hay que destacar que los datos de la serie roja de todos los grupos se encuentran dentro del rango de valores fisiológicos descritos en ovino.

**Tabla 1.** Parámetros hematológicos de la serie roja

	CONTROL	CARN006	CARN012	VITE006	eed	p
HTC	29,8 <sup>b</sup>	31,5 <sup>ab</sup>	32,4 <sup>a</sup>	32,7 <sup>a</sup>	1,02	*
HMT	7,8	8,1	7,8	7,8	0,31	ns
HGB	107,8 <sup>a</sup>	106,4 <sup>ab</sup>	101,4 <sup>b</sup>	102,4 <sup>b</sup>	2,46	*
VCM	38,2 <sup>b</sup>	39,8 <sup>ab</sup>	41,4 <sup>a</sup>	41,2 <sup>a</sup>	0,95	**
CMHC	35,3 <sup>a</sup>	32,5 <sup>b</sup>	32,1 <sup>bc</sup>	31,3 <sup>c</sup>	0,56	***

<sup>a, b, c</sup> diferentes subíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ); eed: error estándar de la diferencia; HTC: Hematocrito %; HMT: millones de hematies  $\text{mm}^{-3}$ ; HGB: concentración de hemoglobina  $\text{g dl}^{-1}$ ; VCM: volumen corpuscular medio de RBC; CMHC: concentración media de hemoglobina corpuscular  $\text{g dl}^{-1}$ ; ns =  $P > 0,10$ ; \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$ .

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos en las células sanguíneas de la serie blanca.

**Tabla 2.** Parámetros hematológicos de la serie blanca y producción de gamma-interferón

	CONTROL	CARN006	CARN012	VITE006	eed	p
LEUC	10,3 <sup>a</sup>	10,7 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	8,8 <sup>b</sup>	0,67	*
GRAN	3,8	3,9	4,3	3,5	0,31	ns
LINF	5,6 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	5,6 <sup>a</sup>	4,4 <sup>b</sup>	0,48	*
MON	0,70 <sup>b</sup>	0,81 <sup>ab</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,84 <sup>ab</sup>	0,083	*
$\gamma$ -INF	2,3 <sup>a</sup>	2,6 <sup>a</sup>	2,2 <sup>a</sup>	6,8 <sup>b</sup>	1,94	*

<sup>a, b, c</sup> diferentes subíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ); eed: error estándar de la diferencia; LEUC: miles de leucocitos  $\text{mm}^{-3}$ ; GRAN: miles de granulocitos  $\text{mm}^{-3}$ ; LINF: miles de linfocitos  $\text{mm}^{-3}$ ; MON: miles de monocitos  $\text{m}^{-3}$ ;  $\gamma$ -INF: gamma-interferón; ns =  $P > 0,10$ ; † =  $P < 0,10$ ; \* =  $P < 0,05$ .

Los datos revelan una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los recuentos de células blancas en los corderos que recibieron vitamina E en el pienso, causada principalmente por una reducción del número de linfocitos circulantes en estos animales ( $p < 0,05$ ). Por otra parte, los datos relativos a la producción de  $\gamma$ -INF, principal mediador en una respuesta inmune de tipo celular (Th1), indicarían que existe un número más elevado de linfocitos NK activos relacionados con la respuesta inmune innata en los corderos de este grupo. Aunque podría relacionarse la disminución en el recuento de linfocitos con la presencia de una infección vírica subyacente o el estrés de los animales, conviene señalar que todos los animales se encontraban en las mismas condiciones, por lo que esta explicación resulta poco plausible. Asimismo, si bien el consumo de vitamina E se ha asociado con incrementos significativos en el recuento de linfocitos y la producción de  $\gamma$ -INF, éstos efectos sólo han sido descritos en individuos de edad avanzada o con carencia de vitamina E (Reiter et al., 2007). Tan solo los trabajos relativos al tratamiento de hipersensibilidades tipo 1 con vitamina E han descrito reducciones significativas en la proliferación de linfocitos (Zheng et al., 1999). En todo caso, se ha sugerido que el mecanismo de acción a través del cual la vitamina E ejercería su efecto sobre la respuesta inmune, concretamente sobre la producción de  $\gamma$ -INF, podría estar relacionado con la capacidad que este compuesto tiene para inhibir la síntesis de prostaglandinas, específicamente  $\text{PGE}_2$ , con efectos inmunosupresores (Reiter et al., 2007).

Una de las principales funciones del  $\gamma$ -INF producida por los linfocitos es la estimulación de los macrófagos, lo que podría explicar la tendencia a la significación en el recuento de monocitos (MON) observada en los corderos del grupo VITE006. No obstante, también se observó un aumento significativo en el recuento de MON del grupo CARN012 sin que se produjese un aumento en la producción de  $\gamma$ -INF. En este último caso, el aumento de

la actividad fagocítica podría explicarse como consecuencia de una infección concomitante. Sin embargo, dado que todos los grupos de corderos fueron sometidos a las mismas condiciones experimentales, es más factible atribuir este efecto a la actividad antioxidante del carnósico, que podría haber neutralizado la formación de radicales libres a nivel de estas células altamente reactivas (Carrol y Forsberg, 2007).

Los resultados del presente estudio parecen indicar que la vitamina E y el ácido carnósico podrían modular la respuesta inmune de corderos de cebo a través de diferentes mecanismos de acción.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bhattacharyya, S, Hossain, DMS, Mohanty, S, Sen, GS, Chattopadhyay, S, Banerjee, S, Chakraborty, J, Das, K, Sarkar, D, Das, T, Sa, G, 2010. Curcumin reverses T cell-mediated adaptive immune dysfunctions in tumor-bearing hosts. *Cell Mol Immunol* 7, 306-315.
- Molinari, R., Manzi, L., Ricci, S., D'Aquino, M., Tomassi, G., Papeschi, C., Merendino, N., 2009. Diets rich in whole wheat improve redox status and enhance immune responses in rats. *Food Agr Immunol* 20, 95-104.
- López-Campos, Ó, Bodas, R, Prieto, N, Giráldez, FJ, Pérez V, Andrés, S. 2010. Naringin dietary supplementation at 0.15% rates does not provide protection against sub-clinical acidosis and does not affect the responses of fattening lambs to road transportation. *Animal* 4, 958–964.
- Reiter, E, Jiang, Q., Christen, S. 2007. Anti-inflammatory properties of alpha- and gamma-tocopherol. *Mol Aspects Med.* 28, 668-91.
- Carroll, JA, Forsberg, NE. 2007. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet. Clin. Food. Anim.* 23, 105–149.
- Zheng, KC, Adjei, A, Shinjo, M, Shinjo, S, Todoriki, H, Ariizumi, M.1999. Effect of dietary vitamin E supplementation supplementation on murine nasal allergy. *Am J Med Sci* 318, 49-54.

## BLOOD PARAMETERS AND IMMUNE RESPONSE ARE MODIFIED BY CARNOSIC ACID INCLUDED IN THE DIET OF FATTENING LAMBS

**ABSTRACT:** Thirty-two Merino lambs fed barley straw and a concentrate alone (CONTROL group) or enriched with carnosisic acid (0.6 g kg<sup>-1</sup> dry matter (DM), CARN006 group , 1.2 g kg<sup>-1</sup> DM, CARN012 group) or vitamin E (0.6 g kg<sup>-1</sup> DM, VITE006 group) were used to assess the effect of these antioxidant compounds on blood parameters and immune response. Lambs were blood sampled after 5 weeks of being fed the experimental diets. Haemoglobin and red blood cells counts revealed interferences between dietary iron and antioxidants (vitamin E and carnosisic acid), although the mean values for all these parameters were physiological in all the groups. Lymphocytes counts were lower in VITE006 group, but there was a trend towards a higher gamma-interferon production in this group, thus indicating the existence of more activated cells. The groups being fed carnosisic acid did not show significant differences in gamma-interferon production when compared to CONTROL lambs, but higher monocytes counts were detected in CARN012 animals. The results obtained in the present study seem to indicate that vitamin E and carnosisic acid could show different mechanisms of action on immune response.

**Keywords:** carnosisic acid; immunology; leucocytes; interferon; red blood cells