

Aloe vera, alivio verde para la acuicultura

Resumen

Los recursos para elaborar dietas de peces han aumentado su demanda, no así su oferta, apareciendo las fuentes vegetales como alternativa. La harina de soya (SBM) se ha probado en alimentación de salmón Atlántico, gatillando enteritis a nivel de intestino distal. Ante esta problemática, la incorporación de componentes que reduzcan o anulen el daño ocasionado es beneficioso, así el aloe vera (AV) es una opción. El presente artículo muestra los resultados de dos trabajos publicados (Fehrmann-Cartes y col., 2019; 2022a). El primero realizado en pez cebra y el segundo en salmón Atlántico con inclusión evaluaron el efecto de la inclusión de AV en dietas con SBM, logrando en ambas especies un efecto antiinflamatorio. Los resultados obtenidos permiten vislumbrar los beneficios que generaría la incorporación de AV en las dietas generadas para peces de sistemas acuícolas productivos, sin embargo, es necesario profundizar más en la investigación con el salmón Atlántico, lo cual es un trabajo activo y en curso.



K. Fehrmann-Cartes

Núcleo de Investigaciones Aplicadas en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Universidad de las Américas, Campus Chacabuco, Concepción, Chile

kfehmann@udla.cl

Introducción

La acuicultura es un fuerte productivo nacional, desarrollándose de manera exponencial hace ya más de tres décadas (Cerde, 2019). El incremento productivo nacional en este ámbito ha sido principalmente de peces salmónidos, donde destaca el salmón Atlántico, principal especie cultivada (FAO, 2018, 2020). Su naturaleza alimentaria es carnívora, siendo necesaria la proteína de origen animal, donde la harina de pescado ha sido el principal ingrediente precursor (Subpesca, 2017).

La reducción de la materia prima para elaboración de harina de pescado ha obligado a la industria acuícola a buscar nuevos ingredientes, donde el uso de proteínas de origen vegetal toma un importante rol, siendo la soya una de las fuentes más utilizadas producto de su gran contenido proteico y amplia disponibilidad en el mercado (Peng y col., 2013). Sin embargo, este insumo vegetal ha mostrado un efecto negativo al ser incorporado como harina de soya (SBM) en porcentajes sobre el 20% en la dieta de salmónidos, gatillando una inflamación intestinal. Dicha inflamación termina reduciendo la ganancia de peso y la eficiencia productiva del sistema, al mismo tiempo que genera un estrés en los peces que los predispone a afecciones

secundarias (Krogdahl y col., 2003; Urán y col., 2009; Collins y col., 2012).

Por lo anterior, la búsqueda de componentes naturales que reduzcan el deterioro intestinal es interesante, en este contexto aparece la planta aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller, AV), conocida por sus efectos medicinales varios, donde destaca su propiedad antiinflamatoria (Surjushe y col., 2008; Radha y col., 2015; Maan y col., 2018; OIE, 2019).

Para probar las bondades del AV sobre la enteritis se utilizó de manera inicial el modelo animal pez cebra, el cual presenta múltiples ventajas destacando alta prolificidad, fácil manejo, entre otras. Este pez ha sido utilizado previamente replicando el daño inflamatorio gatillado por la soya incorporada en dietas con porcentajes sobre el 30% de inclusión (Hedra y col., 2013; Ulloa y col., 2016), por lo que su uso para estandarización de dosis y método de incorporación resulta ideal para luego aplicar AV en el salmón Atlántico.

Métodos y materiales

Para el desarrollo de ambos estudios, se extrajo el gel de plantas de aloe vera para aplicación en medio o en dietas extruidas (Fehrmann-Cartes y col., 2019). Para establecer detalles sobre AV en

medio se utilizó un ensayo de inflamación inducida químicamente por CuSO_4 (10 mM) (D'alencón y col., 2010), posterior a lo cual se cuantificó *in vivo* el número de neutrófilos presentes en el área del tercer neuromasto afectada químicamente por utilizando la línea transgénica $\text{Tg}(\text{BACmpo:GFP})^{114}$ del pez cebra.

Los tratamientos dietarios utilizados para el pez cebra fueron: harina de soya como principal fuente proteica (SBM: control positivo de inflamación); harina de pescado como principal fuente proteica (FM: control negativo de inflamación); SBM+AV1; SBM+AV2; FM+AV1; FM+AV2. En salmón Atlántico las dietas fueron: SBM; FM; SBM+AV; FM+AV. Tanto en el caso del pez cebra como el salmón Atlántico, las dietas elaboradas fueron de tipo isoproteicas, isolipídicas e isoenergéticas, administrándose 2 veces al día (Fehrmann-Cartes y col., 2019; 2022a).

Adicionalmente, se utilizó inmunohistoquímica para detección de neutrófilos y la enzima *cox2* en el tejido

intestinal del pez cebra (Fehrmann-Cartes y col., 2019). Los análisis de qPCR se realizaron para cuantificar el nivel de transcrito de genes asociados a respuesta inmune, mucosa y antioxidante (Pfaffl, 2001). En salmón Atlántico se realizaron además cortes histológicos del intestino distal, los cuales fueron analizados obteniendo un score de inflamación intestinal (Urán y col., 2018).

Resultados

Para evidenciar los efectos antiinflamatorios del AV en el pez cebra se realizó el ensayo de inflamación inducida por daño químico en los neuromastos ubicados en la línea media, corroborándose el daño en todos los grupos tratados (D'alencón y col., 2013).

Posterior a 40 minutos de incubación con CuSO_4 , el área del tercer neuromasto fue delimitada y en ella se cuantificaron *in vivo* los neutrófilos. Los grupos sin preincubación con AV mostraron un aumento en el número de neutrófilos

en la zona, evidenciando un proceso inflamatorio en curso, por el contrario, los peces expuestos durante 1 hora a diluciones con AV, previo al daño químico, tuvieron significativamente menor llegada de neutrófilos al área del tercer neuromasto, aun cuando el daño por sulfato de cobre se generó de igual forma en todos los grupos, evidenciando un efecto reductor en la llegada de una de las primeras células inmunes en responder a daños en el organismo (Figura 1).

Otra forma de administración del AV se probó en peces cebra, adicionándolo a dietas con harina de soya como fuente principal proteica, dieta gatillante de un proceso inflamatorio intestinal (Hedra y col., 2013). La incorporación del AV en esta dieta inflamatoria mostró nuevamente una reducción en el número de neutrófilos, ahora en el área intestinal, en relación con el grupo control inflamatorio (SBM). El recuento de neutrófilos en el área mostró valores similares a lo observado en el grupo alimentado con la dieta FM, el control negativo de la inflamación. De

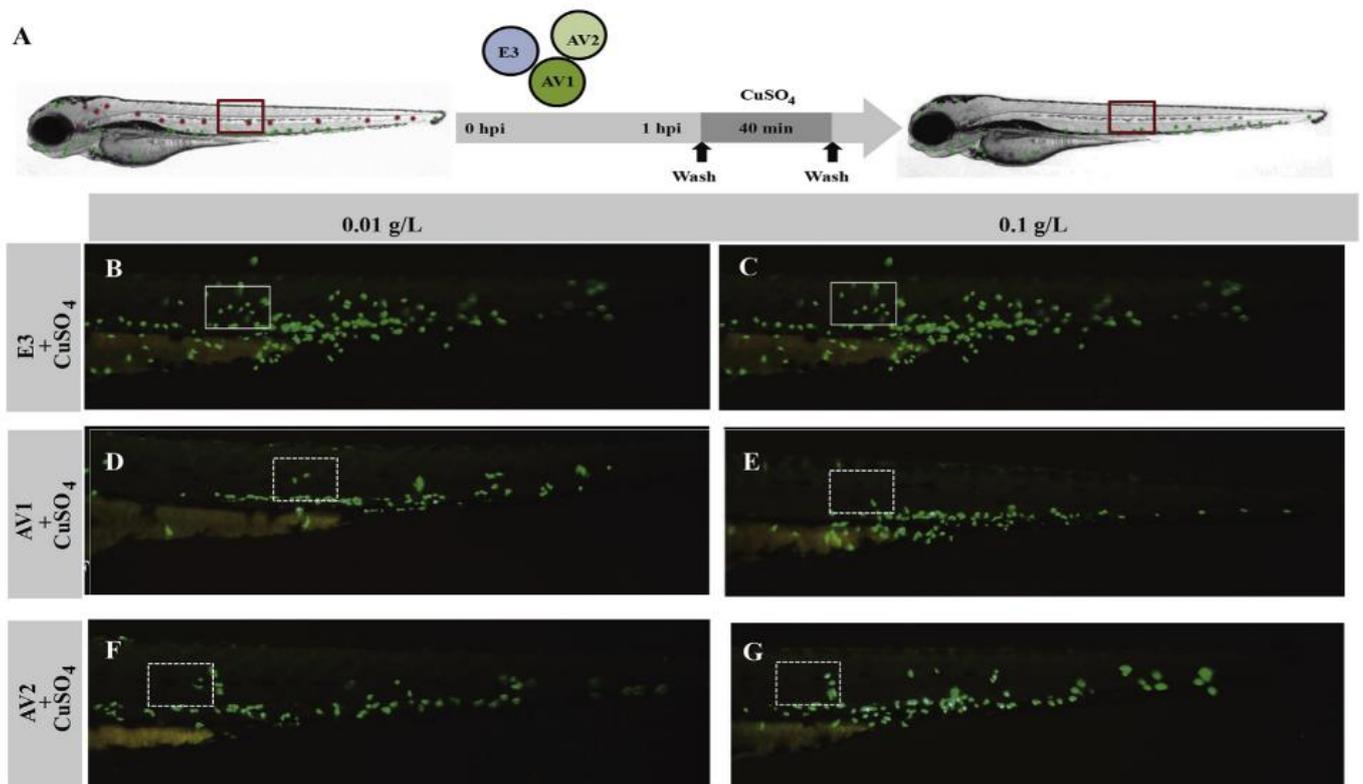


Figura 1. Efecto antiinflamatorio del AV adicionado al medio. (A) Esquema de ensayo inflamación química. Las larvas fueron preincubadas en AV1 y AV2 durante 1 hora, para luego tratarse con CuSO_4 por 40 min. Posteriormente se cuantificó el número de neutrófilos (puntos verdes) alrededor del tercer neuromasto (rectángulo línea roja). (B-G) Vista lateral de segmento de la de en larvas $\text{Tg}(\text{Bacmpx:GFP})^{114}$ control y experimental con el tercer neuromasto delimitado en blanco.

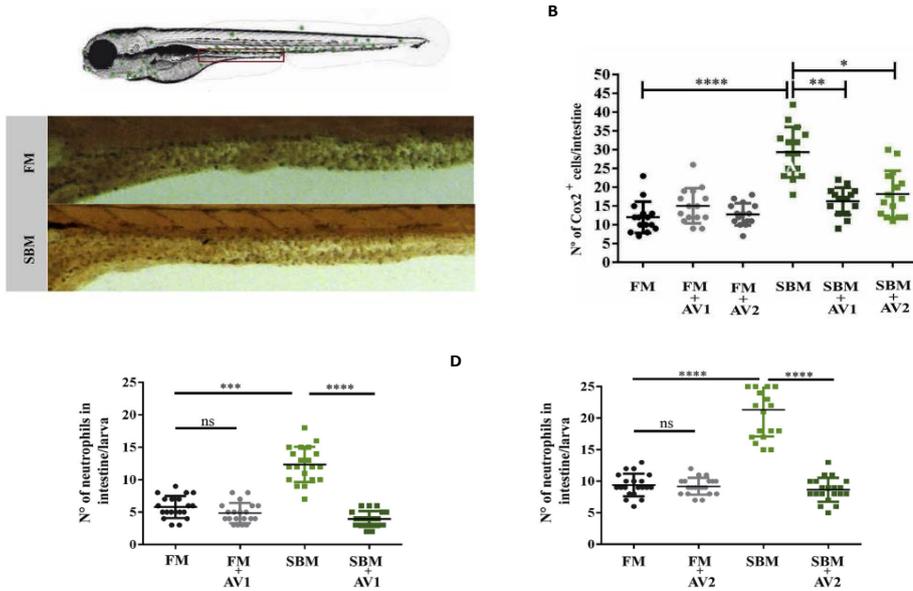


Figura 2. Efecto del AV al ser adicionado en la dieta del pez cebra. (A) Vista lateral de intestino medio en larva alimentada con FM y SBM posterior a inmunohistoquímica Cox-2. (B) Cuantificación de celular Cox-2 + en el intestino de control y grupos experimentales. (C-D) Cuantificación de neutrófilos en intestino de larvas control y experimentales. Análisis estadístico fue realizado a través de ANOVA de 1 vía.

*** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ns: no significance.

igual manera, se observó una reducción significativa de la enzima proinflamatoria cox-2 a nivel intestinal en el grupo SBM+AV1 y SBM-AV2 en comparación con el grupo SBM, donde la proteína estaba marcadamente elevada (Figura 2).

Para complementar los resultados previos se analizó el nivel de transcrito del gen codificante para cox-2 el cual se presentó elevado, junto a otros genes implicados en la respuesta inmune, función mucosa y antioxidante (a excepción del gen antiinflamatorio il-10 que estaba reducido), en el grupo SBM versus SBM+AV1 y SBM+AV2, grupos que mostraron un nivel de transcrito inferior.

Con los resultados obtenidos en el modelo pez cebra, se decidió la dosis de AV a utilizar en la dieta de salmón Atlántico. En esta última especie, la adición de AV a la dieta inflamatoria SBM (SBM+AV), mostró una marcada y significativa reducción del proceso inflamatorio intestinal, observada a través de cortes histológicos con baja puntuación para el proceso de enteritis, junto a un reducido nivel de transcrito del gen proinflamatorio interleuquina 1 beta, en relación con el grupo SBM (Figura 3).

Discusión

Es ampliamente conocido que el AV tiene múltiples propiedades beneficiosas, siendo la antiinflamatoria una de las más reportadas a través de distintos tipos de adiciones, sin embargo, escasos trabajos han sido realizados en peces (Zanuzzo y col., 2012, 2015, 2017; Mehrabi y col., 2019). Los resultados obtenidos a través del ensayo de inflamación inducida químicamente son indicativos del impacto del AV sobre la migración de células inmunes, en este estudio neutrófilos, lo cual corrobora el poder antiinflamatorio observado en otros trabajos (Park y col., 2009; 2011; Budai y col., 2013).

El efecto antiinflamatorio y/o protector gastrointestinal del AV al ser incorporado en la dieta con un alto porcentaje de inclusión de harina de soja, tanto en pez cebra como en salmón Atlántico, sugieren el potencial de este aditivo para restaurar la salud intestinal. Estos resultados concuerdan con otros estudios reportados principalmente en ratas con úlceras gástricas y procesos de colitis, quienes disminuyeron el proceso inflamatorio al alimentarse con distintos compuestos a partir del AV (Eamlamnam y col., 2006; Park y col., 2011).

Una de las posibilidades ante el menor recuento de neutrófilos y el gen cox-2 en el intestino del pez cebra alimentado con las dietas SBM+AV, podría tener relación con el poder inmunoestimulante del AV, a través del cual se podría obtener una anticipada restitución de la salud epitelial. Para corroborar lo anterior son necesarios estudios que exploren la dinámica de células inmunes implicadas, idealmente *in vivo* a lo largo de los días de alimentación. Este efecto ha sido reportado de manera similar por Haghghi y col. (2014) y Zanuzzo y col. (2012, 2015, 2017), entre otros.

La planta de AV posee diversas moléculas en su estructura, donde además del agua, mayor componente del gel, destacan importantes nutrientes esenciales como: vitamina C, E, provitamina A, compuestos fenólicos, entre otros. Estos componentes pueden estar actuando de manera individual y/o sinérgica activando el sistema antioxidante, antiinflamatorio y/o modificando la respuesta inmune

epitelial (Radha y col., 2015; Maan y col., 2018). Los resultados a nivel de transcrito confirman un nivel inferior de enzimas antioxidantes en los peces alimentados con AV, lo que sugiere un menor estrés oxidativo en curso. El AV cuenta con nutrientes en su estructura que poseen efecto antioxidante, las cuales podrían ser causantes de un menor proceso inflamatorio a través de la neutralización de especies reactivas de oxígeno, protegiendo el epitelio intestinal de los peces (Malterud y col., 1993; Choi y col., 2003; Kang y col., 2014).

Adicionalmente, moléculas en el AV con acción prebiótica podrían estar colaborando con lo anterior, promoviendo un estatus saludable del epitelio intestinal, a través del aumento en la proliferación de las bacterias benéficas y reducción de las dañinas, lo que contribuye a un menor proceso inflamatorio (Guo y col., 2003; 2004).

Son diversas las posibles causas de los beneficios en el uso de este aditivo natural, como fue observado en los cortes histológicos intestinales de salmón, sin embargo, es necesario continuar los estudios en esta especie de importancia comercial, aumentando los tiempos de exposición a las dietas experimentales y realizando la medición de parámetros productivos.

Conclusiones

El AV muestra un marcado efecto antiinflamatorio en el pez cebra y salmón Atlántico. Estos resultados pueden servir como respaldo para la utilización de este aditivo natural en dietas de salmones con incorporación de un 30% de harina de soya, anulando el cuadro de enteritis, y permitiendo un mejor aprovechamiento de los nutrientes disponibles, y a su vez, potenciando el bienestar animal.

Es fundamental determinar los efectos de la dieta sobre el rendimiento nutricional de salmónidos y poder ahondar más sobre las moléculas responsables del efecto protector del AV. Si bien en estos dos estudios se ha confirmado el efecto antiinflamatorio, se desconoce el mecanismo a través del cual se genera. Actualmente las investigaciones de los beneficios de esta planta medicinal están

en curso, evaluando los efectos sobre la regeneración epitelial en el pez cebra (colaboración con la Dra. Javiera De la Paz, UDEC), efecto que se destaca en diversos trabajos (Iglesias y col., 2022; Yebra y col., 2017; Takzare y col., 2019; Romero y col., 2019), y el cual resulta beneficioso para la industria acuícola ante las afecciones generadas por ectoparásitos en la piel.

Hasta el momento los resultados son prometedores y serán presentados en el congreso internacional "Aquaculture Europe 2023", a realizarse en Austria durante septiembre, proyectando una alta viabilidad de uso en salmón Atlántico (Fehrmann-Cartes y col., 2022b).

Referencias

Para descargar estas referencias visita www.salmonexpert.cl/descargas

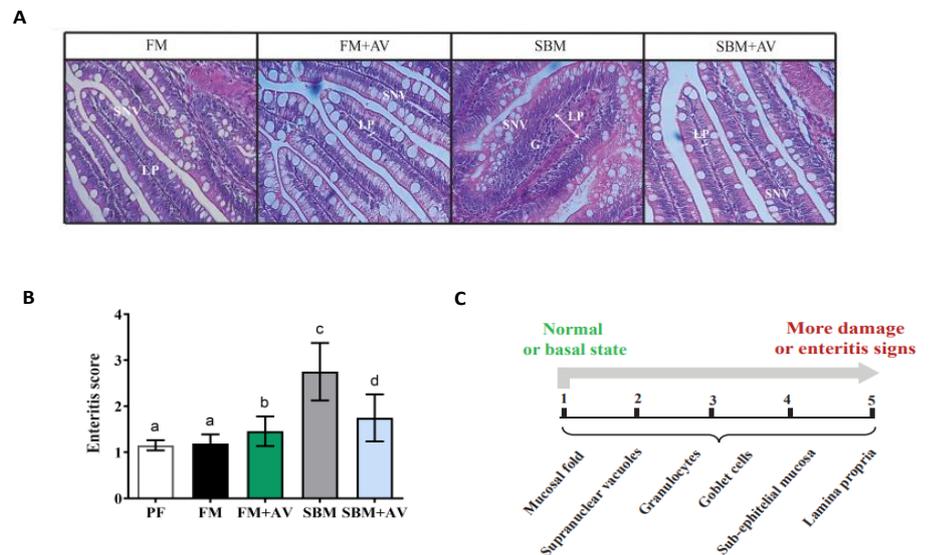


Figura 3. Efecto del AV en la morfología intestinal de salmón Atlántico. (A) Secciones histológicas representativas de intestino distal posterior a 28 días de alimentación. Tinción hematoxilina/eosina. (B) Valores promedio obtenidos para la escala de proceso de enteritis en los distintos grupos (Enteritis Score. evaluación de 6 parámetros asociados). (C) Escala de evaluación proceso de enteritis puntaje de 1 a 5, donde 1 representa estado normal/basal y 5 representa máximo grado de daño/enteritis. Los datos fueron analizados por ANOVA de 1 vía y Tukey test. La significancia estadística es indicada con letras diferentes. $p < 0,05$.