

## LA DESPENSA DEL MAR



Pi Nyvall Collén, Ph.D., R&D Manager, **Olmix Group**

Maria Angeles Rodriguez, Animal Care Technical Service Manager, Olmix.

El mar ofrece un universo nuevo de posibilidades por descubrir, cuando empezamos a entender la riqueza de las diferentes algas. Las macroalgas marinas incluyen las algas verdes (e.g. *Ulva sp.*), las rojas (e.g. *Palmaria palmata*) y las pardas (e.g. *Ascophyllum nodosum*) (Figura 1), y aunque la distancia evolutiva entre estos grupos es la misma que la distancia entre animales y hongos, todos contienen polisacáridos con propiedades funcionales que pueden mejorar el estado sanitario de los animales cuando se incluyen en su alimentación.

Cuando hablamos de macroalgas o algas marinas, podemos pensar en especies oportunistas que producen proliferaciones masivas que crean problemas para la pesca y también cuando se acumulan en las playas, o de algas comestibles usadas en la cocina asiática. Muy pocos saben que uno de los mayores usos de las algas es para extraer hidrocoloides, como carragenatos, agar y alginatos, usados extensivamente como agentes gelificantes y emulsionantes en muchos alimentos en todo el mundo. Incluso menos gente sabe que las algas marinas se están investigando actualmente por sus muchas propiedades saludables en humanos y animales. Algunos de esos efectos son mediados por los mismos tipos de estructuras presentes en los hidrocoloides, polisacáridos sulfatados y polianiónicos de la pared celular de las algas. Algunas actividades funcionales o biológicas que pueden proporcionar una ventaja para la producción animal son la inmunomodulación, la protección de la salud intestinal, y la interacción entre polisacáridos de algas y arcillas para la gestión del riesgo de micotoxinas.



**Figura 1.** Representantes de tres grupos diferentes de macro algas (verdes: *Ulva sp*, rojas: *Palmaria palmata*, pardas: *Ascophyllum nodosum*).

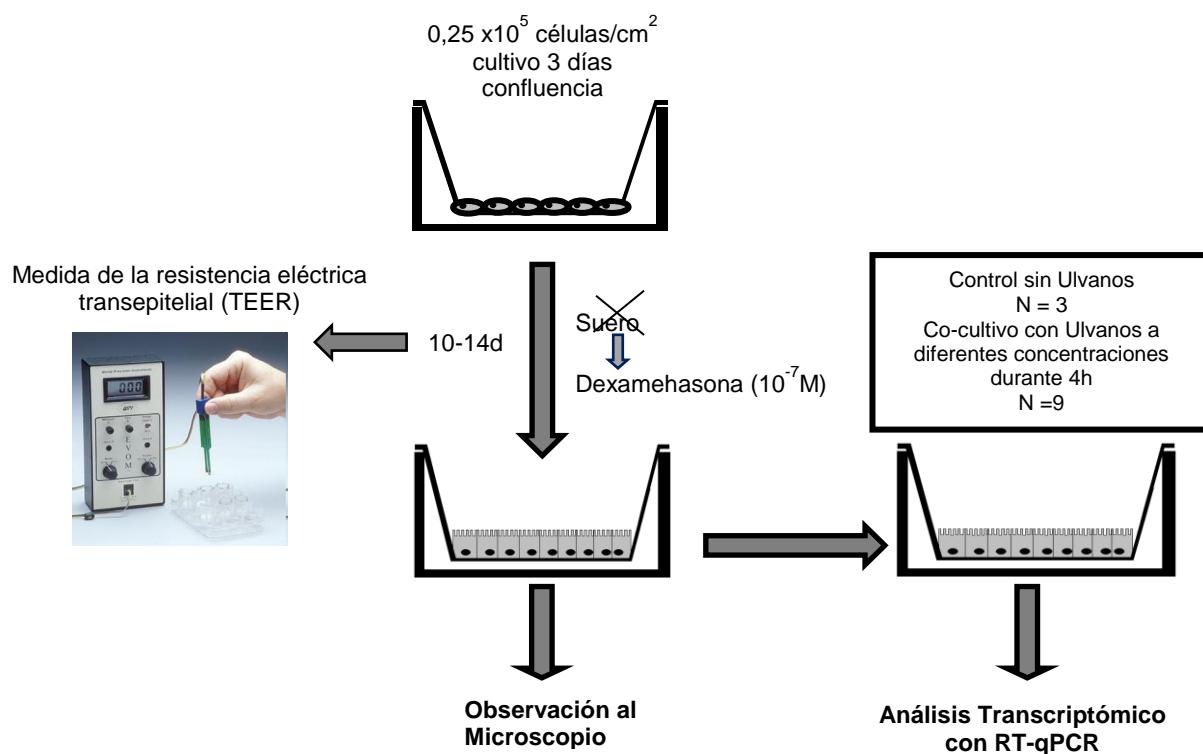
### 1. Inmuno modulación

Los antibióticos se han usado en alimentación animal durante mucho tiempo para proteger a los animales contra los patógenos. Sin embargo, en las últimas décadas el uso extremo de antibióticos en granja para mejorar los rendimientos ha contribuido a aumentar la resistencia bacteriana a los antibióticos y esto supone una amenaza para la salud animal y humana. Consecuentemente, se ha empezado a investigar para encontrar soluciones para reducir el uso de antibióticos. Se han investigado las propiedades biológicas de los polisacáridos sulfatados hidrosolubles de las paredes celulares de las algas marinas y se han documentado sus actividades inmunomodulatorias. Por ejemplo, los carragenatos y el agar, polisacáridos de las algas rojas, mejoran la actividad inmunomodulatoria en mamíferos, por la modificación de la actividad de los macrófagos y estimulando la fagocitosis <sup>1</sup>.

Los macrófagos son parte de la respuesta inmunitaria innata presente en todos los vertebrados, proporcionando una protección rápida y general contra los patógenos. La estimulación por los carragenatos es mediada por el receptor Toll 4<sup>2</sup> y esta actividad se pierde cuando el polisacárido se desulfata. Los polisacáridos de las algas verdes, Ulvanos, muestran unos resultados similares. En cualquier caso, los extractos que son administrados oralmente tienen que ser capaces de atravesar la barrera intestinal y entrar en el torrente sanguíneo para poder ejercer un efecto sobre los macrófagos. Para demostrarlo Olmix escogió trabajar con el INRA de Tours con células intestinales porcinas (IPEC-1), un modelo que tiene la ventaja de ser comparable directamente con una distribución oral del extracto (**Figura 2**). Así, se ha evaluado con este modelo la capacidad de un extracto bruto que contiene polisacáridos sulfatados del alga verde *Ulva armoricana* para estimular la expresión de los mediadores de la respuesta inmunitaria<sup>4</sup>. Se incubaron las células IPEC-1 con el extracto durante 4 horas y se midió después la expresión de un número de marcadores inmunitarios por RT-qPCR. Los análisis mostraron que el extracto

que contenía los polisacáridos sulfatados inducía un aumento de la expresión de varias citoquinas en comparación con las células no tratadas. Las principales citoquinas estimuladas fueron la quemoquina CCL20, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1  $\alpha$  y IL-6 y en un menor rango aunque también significativamente IL-1 $\beta$ , IL-12p40, TGF-  $\beta$  y PPAR  $\gamma$ . Para identificar el receptor involucrado se realizaron experimentos similares en líneas celulares renales de embrión humano, células HEK293, modificadas para contener un solo tipo de receptor por línea celular. En este sistema el extracto de alga estimuló principalmente el receptor de membrana TLR4.

Una prueba *in vivo* en gallinas ponedoras mostró una mejora de su estado inmunitario (niveles más altos y menor coeficiente de variación en los títulos de anticuerpos de la enfermedad de Newcastle tras la vacunación) y una mejora del resultado productivo (tasa de puesta, peso de huevo y peso de la gallina). Estos resultados sugieren que los polisacáridos de algas se pueden utilizar como una nueva estrategia profiláctica para estimular la respuesta inmunitaria de los animales.



**Figura 2:** Diseño esquemático del modelo con línea de células intestinales IPEC-1 usado por Olmix para la identificación de las actividades inmunomodulatorias de los extractos de algas suministrados oralmente.

## **2. Estimulación de la salud intestinal**

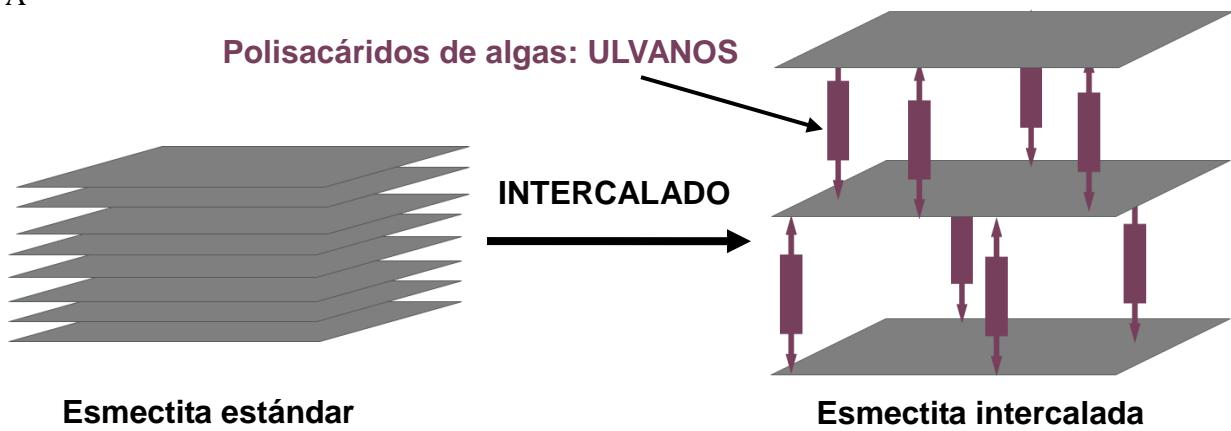
Las mucinas intestinales son glicoproteínas que cubren la superficie luminal del epitelio entérico formando un gel protector que actúa como barrera frente a agresiones mecánicas, colonización bacteriana, toxinas bacterianas y, por supuesto, de la auto digestión. Entonces, cualquier cosa que mejore la producción de mucinas (por las células caliciformes) mejorará la barrera de mucina y así mejorará la salud intestinal del animal. Algunos datos de pruebas en laboratorios muestran que algunos polisacáridos de algas (un alginato y un ulvano) pueden en efecto aumentar la secreción de mucina<sup>5</sup>. Estos resultados sugieren que los polisacáridos de algas son secretagogos efectivos del moco intestinal y que su suplementación en la ración puede ser útil para mejorar la salud intestinal, principalmente en animales jóvenes como los terneros, mejorando su recuperación en procesos diarreicos.

## **3. Interacción de los polisacáridos de algas y arcillas para la gestión del riesgo de micotoxinas**

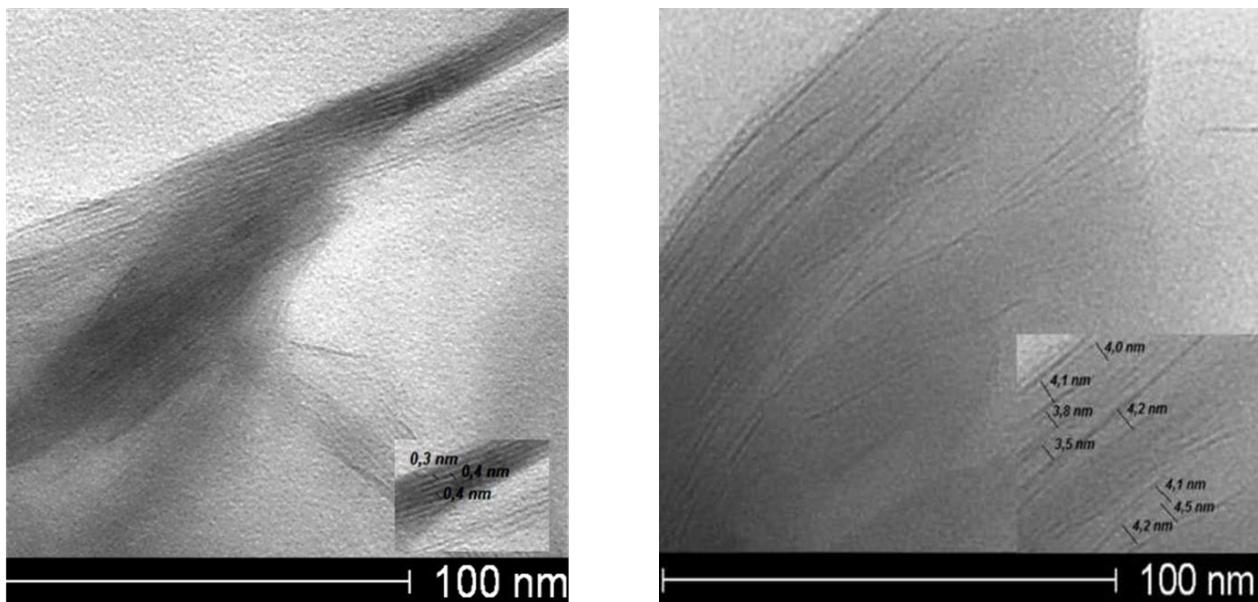
Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos por varias especies fúngicas que crecen en diversos ingredientes de la ración (Cullen and Newberne, 1994). Su toxicidad varía, teniendo efectos hepatotóxicos e incluso carcinógenos (aflatoxinas), estrogénicos (zearalenona), inmunotóxicos (patulina, tricotecenos, fumonisinas), nefrotóxicos (ocratoxina A) y neurotóxicos (tremorígenos, alcaloides del ergot). En campo, uno de los efectos más importantes de las micotoxinas (tricotecenos principalmente) es una alteración del uso de la ración, crecimiento y producción de leche debido a una menor absorción de nutrientes y un efecto sobre la fermentación ruminal, con y sin reducción de la ingesta. Las pérdidas de producción, la mayor incidencia de enfermedades y los peores resultados reproductivos tienen un gran impacto económico para el ganadero. Así, es muy importante detectar y proteger a los animales de la contaminación con micotoxinas para evitar estas pérdidas económicas. Las arcillas se utilizan en alimentación animal principalmente por sus propiedades de adsorción que contribuyen significativamente a la salud animal por la reducción de la biodisponibilidad de los metales pesados y las micotoxinas. La capacidad de las esmectitas (grupo compuesto por varias arcillas, como la montmorillonita sódica y/o cálcica) para atrapar micotoxinas depende su tamaño de partícula, estructura y composición, la eficacia de la adsorción en la estructura de las moléculas adsorbidas y de su capacidad para penetrar en el espacio interlaminar de las esmectitas. Este espacio interlaminar es muy estrecho y no permite la entrada de moléculas grandes y con volumen como los tricotecenos, zearalenona o fumonisinas. Algunas tecnologías específicas y patentadas son capaces de modificar la estructura de la arcilla a una escala nanométrica, aumentando el espacio interlaminar y mejorando así la capacidad de adsorción de estas micotoxinas más grandes. Una de estas tecnologías utiliza agentes naturales como los polisacáridos de algas y agua como solvente para la modificación de la arcilla Montmorillonita<sup>7</sup> (*Figura 3*).

La capacidad de la montmorillonita modificada con ulvanos para secuestrar micotoxinas como el Deoxinivalenol o vomitoxina (DON) y la Fumonisina B1 (FB1) se investigó usando el modelo gastrointestinal dinámico del TNO TIM-1 (un modelo *in vitro* que ofrece unas condiciones altamente reproducibles y fiables comparadas con condiciones *in vivo*)<sup>8</sup>. Los resultados mostraron que este material modificado tiene una capacidad muy alta para reducir la biodisponibilidad de estas micotoxinas a nivel intestinal, del 50 al 60% para la FB1 y del 40% para DON. Además, se comprobó que el uso de este material modificado no alteraba el valor nutritivo de la ración, ya que no modificó la disponibilidad de la proteína y de los carbohidratos, así como la biodisponibilidad de las vitaminas B1 y B2 comparado con el control. En conclusión, esta esmectita intercalada con polisacáridos de algas verdes muestra una alta afinidad para adsorber un espectro muy amplio de micotoxinas y presenta una solución para aliviar los problemas causados por ellas.

A



B



**Figura 3: La diferencia entre una esmectita normal y una intercalada; A. Ilustración esquemática**

**B. Fotografías con microscopio de transmisión electromagnética (TEM)**

El conocimiento de todas las propiedades de los extractos de las algas marinas es una ciencia que va avanzando día a día, ofreciendo nuevas posibilidades según se van descubriendo nuevas propiedades. En estos momentos se está estudiando las propiedades antihiperlipidémicas de algunos extractos de algas, que nos pueden ayudar a contrarrestar los indeseables efectos de la cetosis en vacas lecheras. El uso combinado de sus diversas propiedades, como la estimulación del sistema inmunitario, la mejora de la salud intestinal y los usos de programas de gestión para el riesgo de micotoxinas, posicionan a estos productos en base a algas como una alternativa para un programa de nutrición libre de antibióticos. Todavía queda mucho por descubrir e investigar en ese vasto universo de posibilidades que nos ofrece el mar.

## Referencias

1. Huamao Y. et al (2006) Immunomodulation and antitumor activity of  $\kappa$ -carrageenan Oligosaccharides. *Cancer Letters* 243: 228–234.
2. Tsuji et al. (2003) Suppression of allergic reaction by lambda-carrageenan: toll-like receptor 4/MyD88-dependent and-independent modulation of immunity. *Clin Exp Allergy* 200:249–58.
3. Leiro et al (2007) Immunomodulating activities of acidic sulphated polysaccharides obtained from the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. *International Immunopharmacology* 7: 879–888.
4. Berri et al. (2015) Immunomodulatory activities of a sulfated polysaccharide-rich extract of green algae. *Journal of Applied Phycology*, submitted
5. Barcelo et al. (2000) Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut* 46: 218-224.
6. Cano Lopez G. et al. (2013) Efficacy of algae-based complementary feed Ecopiglet® in reducing the use of medication for piglets in maternity.
7. Laza A.L et al. (2007). Green Nanocomposites: Synthesis and Characterization. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7 (9), 3207-3213.
8. Demais H., Havenaar, R. (2008) Efficacy of sequestrant/chelator in the binding of mycotoxins during transit through a dynamic gastrointestinal model (TIM) simulating the GI conditions of pigs, 4th WMF proceedings