

**Algunos aspectos fisiológicos e inmunológicos en el desencadenamiento de la enfermedad del invierno en la dorada, *Sparus aurata*.**

Adriana Hernández

Depto. de biología celular, fisiología e inmunología, Universitat Autònoma de Barcelona, España y Centro de Referencia en Acuicultura de Cataluña, España.

**Palabras clave:** *Sparus aurata*, enfermedad de invierno, inmunología.



**Introducción.**

La Dorada, *Sparus Aurata* es una de las principales especies cultivadas del Mediterráneo. Las Doradas salvajes viven en ambientes donde la temperatura del agua oscila entre los 11°C y 23°C, pero con el descenso térmico normalmente migran a zonas más profundas donde el agua es más templada. Pero, las doradas criadas en cautividad que no pueden escapar de dicho ambiente suelen sufrir la denominada "enfermedad o síndrome del invierno" que aparece cuando las temperaturas descienden por debajo de los 12°C, causando mortalidades en las explotaciones de hasta el 30% de los animales (Doménech y cols, 1997) así como considerables pérdidas económicas. Pero el descenso brusco de la temperatura no es el único responsable de esta enfermedad caracterizada por la detención de la ingesta, comportamiento letárgico o semiletárgico, distensión abdominal, a veces aparecen queratitis, petequias, úlceras en la piel, enrojecimiento en la boca o en la base de aletas, lesiones histopatológicas en hígado, páncreas y músculo, opacidad del cristalino. Probablemente otras condiciones de estrés además de la baja temperatura, asociadas al cultivo intensivo como: manipulación, densidad, presencia de patógenos oportunistas (Tort y cols, 1998) favorezcan el brote de este síndrome.

La respuesta primaria frente al estrés es el desencadenamiento de respuestas fisiológicas que se inician con la liberación de catecolaminas y cortisol, que favorece entre otros factores: la movilización energética principalmente a causa de la liberación de glucosa y cambios en el balance hidromineral (Barton, 2002; Iwama, 1998; Wendelaar Bonga, 1997), así como el desencadenamiento de la respuesta inmunitaria.

Evolutivamente, los peces teleósteos son los primeros vertebrados en poseer tanto elementos del sistema inmune innato o inespecífico, como del sistema adaptativo o específico. El sistema adaptativo requiere de mayor tiempo de repuesta y no se encuentra tan desarrollado como en otros vertebrados, sin embargo, la respuesta inespecífica es más efectiva en un ambiente tan cambiante como el acuático que requiere mayor rapidez para adaptarse al nuevo medio (Watts, y col., 2001).

El objetivo del presente trabajo fue, determinar el efecto de distintos factores de estrés en el desencadenamiento de la enfermedad del invierno en la dorada. Para ello se analizaron indicadores de estrés a nivel hormonal y metabólico (concentración de cortisol y glucosa, respectivamente) e indicadores de la respuesta inmunológica inespecífica (actividad lisozímica, de hemoaglutinación y hemolítica del suero), divididos en tres estudios. El primero fue un seguimiento

estacional (1 año) de la enfermedad del invierno, a través de tres instalaciones del Mediterráneo utilizando dos métodos de cría diferentes: jaulas flotantes y estanques. En el segundo estudio se analizó el descenso térmico agudo en condiciones controladas de laboratorio para determinar la dinámica de los indicadores inmunológicos, así como su relación con indicadores de estrés a nivel hormonal y metabólico. Y por último el estudio de la densidad como factor de estrés (en un seguimiento estacional en jaulas flotantes).

### **Material y Métodos.**

1º. Estudio estacional de parámetros inmunológicos de doradas, en tres instalaciones del Mediterráneo (2 en jaulas flotantes y una en estanque), durante los meses de noviembre, enero, marzo, mayo, julio y setiembre (N=20, cada muestreo).

El peso de los peces fue para los tres estudios, entre 140 y 170 gr.

2º. Estudio del descenso térmico agudo, en una rampa de temperatura, desde 14°C a 5°C bajo condiciones de laboratorio. Se emplearon 3 acuarios, con una densidad de peces de 3 Kg/m<sup>3</sup>. Uno de los acuarios fue el control, con una temperatura constante de 14°C, en los otros 2 se realizó un descenso térmico gradual de 1°C/hora y se muestrearon N=10, de cada acuario luego de que alcanzaran los 5°C.

3º. Estudio de la densidad sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos. Se utilizaron 4 jaulas flotantes: 2 con densidad control, 5-6 Kg/m<sup>3</sup> y 2 con densidad alta, 11-11,4 Kg/m<sup>3</sup>

En los tres diseños experimentales se obtuvo sangre de la vena caudal y la misma fue colocada en tubos y mantenidos a 4°C durante 3 horas, luego fueron centrifugados ( 8000 g), el suero y el plasma obtenidos se almacenaron a -80°C. El suero se utilizó posteriormente para el análisis de hemoaglutinación, de la actividad hemolítica del suero y la actividad lisozímica. El plasma se utilizó para el análisis del cortisol realizando radioinmunoanálisis (RIA), Molinero y González 1995 y concentración de glucosa por método colorimétrico enzimático:GOD-PAP (Peridochrom Boeheringer Mannheim GmbH)

### **Resultados y Discusión**

1º. *Estudio estacional de parámetros inmunológicos.*

Los resultados fueron similares en las tres piscifactorías. Entre el complemento, y la actividad de aglutinación hubo pequeñas diferencias con un comportamiento estacional donde los valores más bajos se registraron durante los meses más fríos del año; sin embargo la actividad lisozímica mostró mayor variabilidad a lo largo del año. Se sabe que el estrés crónico puede provocar inmunodepresión en peces, así como el estrés agudo provoca un aumento de ciertos parámetros inmunológicos. En este caso la variabilidad encontrada en la actividad lisozímica pudo deberse a la presencia *Cryptobia*, un parásito de branquias en los meses de noviembre y marzo. Por lo que,

dentro de los parámetros inmunológicos estudiados el complemento y la actividad hemolítica del suero, han sido buenos indicadores de inmunodepresión con el descenso térmico del agua.

### *2º. Estudio del descenso térmico agudo*

En uno de los acuarios con rampa de temperatura, hubo un descenso térmico de 10°C en 18hs y en el otro de 7°C en 11hs. En general todos los peces fueron capaces de alimentarse hasta los 8°C. La dificultad para la locomoción fue en aumento hasta los 6°C que quedaban inmóviles. Se pudo apreciar al cabo de 18hs opacidad en el cristalino que luego desaparecería a las 28 hs post-experimento (con recuperación de temperatura).

Los parámetros inmunológicos mostraron una severa inmunodepresión, registrándose diferencias significativas en la actividad de aglutinación y del complemento respecto a los controles. Aunque durante estrés agudo los organismos sean capaces de sintetizar proteínas rápidamente (Demers y col, 1998), en caso de temperaturas extremas, las moléculas sintetizadas para la activación del complemento probablemente se vean inhibidas por los desequilibrios iónicos y los aumentos de los niveles de amonio total que atacan los enlaces internos tioésteres de los componentes C3 y C4 del complemento, tal como se ha comprobado en el pez gato (Hayman y col, 1992).

Hubo un aumento significativo de los niveles de cortisol en plasma como consecuencia del descenso brusco de la temperatura del agua; en tilapia se ha visto que puede regular la supresión del sistema inmune (Chen y col, 2002). Por otra parte, el aumento registrado de concentración glucosa, también pudo alterar el equilibrio metabólico.

### *3º. Estudio de la densidad sobre parámetros fisiológicos e inmunológicos*

Al igual que en el 1º estudio, el seguimiento de los parámetros inmunológicos en diferentes estaciones del año mostró estar influenciado por la temperatura. El efecto de la densidad, provocó una disminución, en general, de todos los parámetros inmunológicos siguiendo además la estacionalidad. Solo la lisozima mostró un pico en una de las jaulas con densidad quizás debido a la presencia de patógenos. El cortisol aumentó por efecto de la densidad y en general los peces con alta densidad tenían mayor número de lesiones y patógenos asociados a los peces con sintomatología del síndrome del invierno.

### **Conclusiones.**

En resumen, se puede decir que el estrés asociado al cultivo intensivo y el descenso térmico provoca ayuno prolongado e inmunosupresión. El desencadenamiento de la enfermedad por deficiencias nutricionales y energéticas provoca un deterioro fisiológico que potencia la acción de agentes patógenos. Por ejemplo se ha vinculado frecuentemente el síndrome del invierno con la presencia de *Pseudomonas anguilliseptica* (resultado de estudios realizados posteriormente).