

## EFFECTO DE *PANAX GINSENG* SOBRE PARÁMETROS SANGUÍNEOS Y METABÓLICOS EN VACAS LECHERAS DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN

Nani Hillairet, María Candela

Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada (LBCMA)

Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET Litoral)

Directora: Beccaria, Camila

Co-directora: Baravalle, Celina

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: *Panax ginseng*, parámetros metabólicos y sanguíneos, vacas lecheras

### INTRODUCCIÓN

El período de transición en la vaca lechera, es la etapa más crítica del ciclo productivo, inicia 30 días preparto y se extiende hasta 30 días posparto. Está marcado por cambios profundos en los sistemas endócrinos e inmune lo cual se asocia a una alta incidencia de enfermedades metabólicas e infecciosas (Burton y col., 2001; Kimura y col., 2006, Aleri y col., 2016). En los últimos años la necesidad de reforzar las competencias inmunes de los animales en los períodos de mayor susceptibilidad ha motivado la búsqueda de alternativas naturales dirigidas a reforzar los factores protectores intrínsecos del animal. En concordancia con la tendencia mundial de reducción del uso de antibióticos, una de las alternativas es el uso de modificadores de la respuesta inmune, capaces de interactuar con el sistema inmune modulando la respuesta en el hospedador. El *Panax ginseng* C.A Meyer (PG), es una hierba medicinal utilizada como terapéutico desde la antigüedad. El mayor constituyente de este extracto son las saponinas, consideradas su principal componente activo. En los últimos años el equipo de trabajo ha demostrado su capacidad inmunomoduladora en ensayos realizados *in vitro* e *in vivo* (Baravalle y col., 2010; 2011; 2015, Beccaria y col., 2018 y 2021, Silvestrini y col., 2017, 2023). Por otro lado, los liposomas nanoparticulados son vesículas fosfolipídicas que actúan como adyuvantes incrementando la respuesta inmune, favoreciendo la captura del antígeno, transporte y presentación antigénica. Es por ello que en este trabajo se combinó al extracto de PG con un adyuvante a base de nanopartículas lipídicas y se evaluó su efecto sobre parámetros sanguíneos y metabólicos en vacas lecheras durante el período de transición.

Título del proyecto: Evaluación del potencial efecto inmunoestimulante de un extracto de *Panax ginseng* durante el período de transición en vacas lecheras.

Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2019

Organismo financiador: Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación (Agencia I+D+I).

Director/a: Bibiana, Dallard.

### OBJETIVOS



- 1) Evaluar la proporción de granulocitos, monocitos y linfocitos en sangre periférica luego del tratamiento con PG formulado solo o combinado con liposomas, en vacas lecheras durante el periodo de transición.
- 2) Evaluar los principales parámetros metabólicos de las vacas en el período de transición luego del tratamiento con PG solo o combinado con liposomas.

## METODOLOGÍA

Se seleccionaron vacas Holando Argentino preñadas, con similar número de lactancia (2 o 3) y con glándulas mamarias libres de infecciones intramamarias (IIM) al momento del secado, pertenecientes al tambo de la Escuela de Agricultura, Ganadería y Granja de la UNL. El número de animales por grupo (n) se determinó considerando la cantidad de vacas preñadas disponibles al momento del ensayo y la prevalencia de nuevas IIM adquiridas en el periparto. Todos los animales fueron sometidos a las mismas condiciones de manejo y alimentación.

Para descartar IIM, inmediatamente antes del secado, se tomaron muestras de leche de los cuatro cuartos de cada animal, se realizaron cultivos microbiológicos y recuento de células somáticas. Las vacas fueron secadas utilizando antibióticos IM de liberación lenta, y se incluyeron al azar en cuatro grupos experimentales (10 animales cada uno). Posteriormente, 14 días antes de la fecha probable de parto (FPP), los fueron tratados vía SC con 5 ml de una solución de PG vehiculizada con solución fisiológica estéril (Grupo PG), con 5 ml de una solución de PG con liposomas (Grupo PG+LIP), con 5 ml de liposomas (Grupo LIP) y con 5 ml de solución fisiológica estéril (Grupo Control).

Posteriormente se obtuvieron muestras de sangre de cada animal por punción en la vena yugular, inmediatamente antes de cada tratamiento (14 días previos a la FPP), el día del parto (día 1) y a los 3 y 7 días posparto.

Se realizaron hemogramas completos para determinar fórmulas leucocitarias absolutas (FLA) mediante la utilización del autoanizador hematológico MindrayBC-2800Vet. Las concentraciones de Ca<sup>+</sup> en suero fueron determinadas mediante autoanizador bioquímico CM-250 de Wiener Lab. Las concentraciones de β-hidroxibutirato (BHB) en sangre se midieron mediante tiras reactivas comerciales. Los ácidos grasos libres no esterificados (NEFA) fueron medidos en suero por kits enzimáticos comerciales y las concentraciones de cortisol se midieron mediante kits de inmunoensayo de electroquimiluminiscencia en un laboratorio externo.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante IBM SPSS Statistics Versión 25 a los fines de determinar el efecto de los diferentes tratamientos sobre parámetros sanguíneos y metabólicos. Se utilizó un Modelo Lineal General de Medidas Repetidas (RMANOVA) y un ANOVA tradicional en los diferentes tiempos de muestreo.

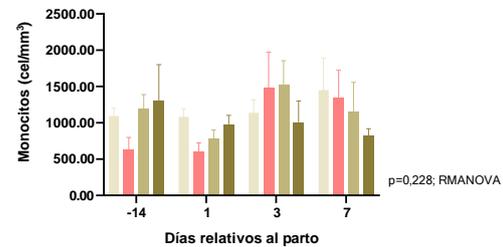
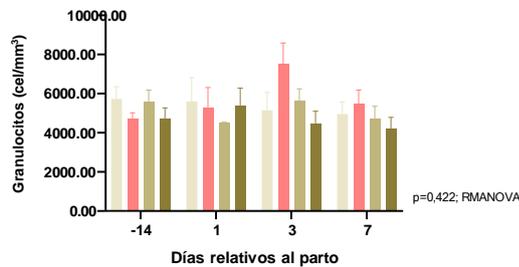
## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

### Parámetros sanguíneos

En los gráficos 1 y 2 se observa el efecto de los diferentes tratamientos sobre granulocitos y monocitos a diferentes tiempos posparto, donde no se vió ningún efecto a lo largo del tiempo sobre ninguna de estas células (granulocitos,  $p=0,422$  y monocitos,  $p=0,228$ ). A los 3 días posparto en el grupo PG+LIP se vió un aumento en el número de granulocitos que, si bien no fue significativo con respecto a los demás tratamientos, mostró una tendencia ( $p=0,076$ ).

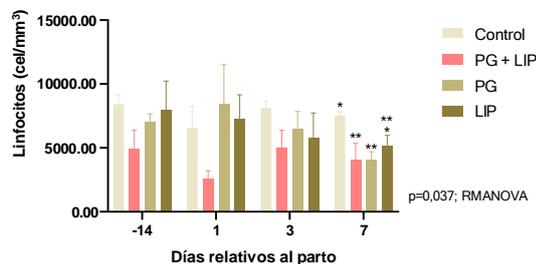


En el gráfico 3 se observa el efecto de los tratamientos sobre el número de linfocitos a diferentes tiempos posparto. Se observó un efecto significativo de los diferentes tratamientos a lo largo del tiempo ( $p=0.037$ ). A los 7 días posparto, el número de linfocitos disminuyó significativamente en todos los grupos experimentales con respecto al grupo control.



### 1) FLA mm<sup>3</sup> de granulocitos.

### 2) FLA mm<sup>3</sup> de monocitos.



### 3) FLA mm<sup>3</sup> de linfocitos.

## Parámetros metabólicos

En la tabla 4 se observa el efecto de los diferentes tratamientos sobre BHB, Ca<sup>+</sup>, NEFA y cortisol a diferentes tiempos posparto.

No se observó efecto de los diferentes tratamientos a lo largo del tiempo en las concentraciones de BHB y Ca<sup>+</sup> ( $p=0,138$  y  $p=0,934$ , respectivamente). Si bien, luego del parto, se observó una disminución del Ca<sup>+</sup>, que fue similar para los distintos tratamientos y que fue más marcada al día 1 y 3 posparto, no se observaron diferencias entre los tratamientos en cada tiempo de muestreo evaluado.

Con respecto a NEFA y cortisol se observó un efecto de los diferentes tratamientos a lo largo del tiempo ( $p=0,003$  y  $p=0,049$ , respectivamente). Al día 7 posparto, se observó un aumento significativo de NEFA en los animales de los grupos tratados con PG+LIP y LIP, con respecto al control y a los animales tratados con PG solo ( $p=0,017$ ) y una disminución significativa de la concentración de cortisol en los animales tratados con PG con respecto a los tratados con LIP y controles ( $p=0,016$ ).

A partir de los resultados se puede concluir que el tratamiento previo al parto con PG y/o LIP modificó la FLA de los linfocitos, las concentraciones de NEFA y cortisol y que este efecto fue más significativo a los 7 días posparto. Estos resultados, junto a resultados de parámetros inmunológicos (en evaluación) nos permitirán dirigir el curso de nuestra investigación y definir las ventajas y desventajas de aplicar PG 14 días antes del parto en pos de reforzar parámetros inmunológicos del animal durante el período de transición; asimismo, determinar si la combinación con el liposoma potencia su efecto.

4) Concentraciones de BHBA, Ca<sup>+</sup>, NEFA y cortisol en sangre.

	Tratamiento	Días relativos al parto				P- RMANOVA
		-14	1	3	7	
BHBA (mmol/L)	Control	0,42 ± 0,12	0,50 ± 0,06	0,87 ± 0,23	0,74 ± 0,12	0,138
	PG+LIP	0,42 ± 0,04	0,58 ± 0,16	1,02 ± 0,22	1,48 ± 0,49	
	PG	0,60 ± 0,12	0,64 ± 0,02	0,76 ± 0,09	1,50 ± 0,40	
	LIP	0,42 ± 0,13	0,48 ± 0,05	0,56 ± 0,07	0,68 ± 0,05	
	Significancia por tiempos	0,573	0,614	0,311	0,174	
Ca <sup>+</sup> (mg/dL)	Control	10,28 ± 0,09	8,38 ± 0,41	8,65 ± 0,71	9,83 ± 0,28	0,934
	PG+LIP	10,58 ± 0,20	8,69 ± 0,11	9,27 ± 0,30	9,41 ± 0,26	
	PG	10,61 ± 0,08	8,81 ± 0,01	9,49 ± 0,43	9,61 ± 0,14	
	LIP	9,89 ± 0,31	8,93 ± 0,60	9,98 ± 0,39	9,57 ± 0,36	
	Significancia por tiempos	0,143	0,844	0,312	0,235	
NEFA (mmol/L)	Control	0,24 ± 0,01	0,39 ± 0,05	0,33 ± 0,02	0,36 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,003
	PG+LIP	0,23 ± 0,01	0,42 ± 0,04	0,45 ± 0,05	0,49 ± 0,02 <sup>b</sup>	
	PG	0,27 ± 0,03	0,40 ± 0,04	0,37 ± 0,05	0,33 ± 0,02 <sup>a</sup>	
	LIP	0,26 ± 0,01	0,56 ± 0,07	0,53 ± 0,06	0,49 ± 0,06 <sup>b</sup>	
	Significancia por tiempos	0,591	0,135	0,07	0,017	
Cortisol (µg/dL)	Control	1,02 ± 0,18	1,31 ± 0,24	1,53 ± 0,32	1,51 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,049
	PG+LIP	0,91 ± 0,16	1,30 ± 0,52	1,05 ± 0,30	0,98 ± 0,25 <sup>a,b</sup>	
	PG	1,01 ± 0,26	1,30 ± 0,33	0,93 ± 0,19	0,50 ± 0,09 <sup>b</sup>	
	LIP	0,56 ± 0,16	1,44 ± 0,36	0,96 ± 0,24	1,24 ± 0,09 <sup>a</sup>	
	Significancia por tiempos	0,476	0,992	0,445	0,016	

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

**Aleri JW**, y col. (2016) Parturition immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Vet Sci.* 108:8-17.

**Baravalle C**, y col. (2010) Effect of *Panax ginseng* on cytokine expression in bovine mammary glands at drying off. *Vet Immunol Immunopathol.* 138:224-230.

**Baravalle C**, y col. (2011) Proinflammatory cytokines and CD14 expression in mammary tissue of cows following intramammary inoculation of *Panax ginseng* at drying off. *Vet Immunol Immunopathol.* 144:52- 60.

**Baravalle C**, y col. (2015) Intramammary infusion of *Panax ginseng* extract in bovine mammary gland at cessation of milking induces changes in the expression of toll-like receptors, MyD88 and NF-κB during early involution. *Res Vet Sci.* 100:52-60.

**Beccaria C**, y col. (2018) *Panax ginseng* extract reduces *S. aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells but does not affect macrophages phagocytic activity. *Microb Pathog.* 122:63-72.

**Beccaria C**, y col. (2021) Efficacy of *Panax ginseng* extract combined with cephalexin as a dry cow therapy. *J Dairy. Res.* 88(01), 64-68.

**Burton JL**, y col. (2001) An immunogenomics approach to understanding periparturient immunosuppression and mastitis susceptibility in dairy cows. *Acta Vet. Scand.* 42:407-424.

**Kimura K**, y col. (2006) Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *J Dairy Sci.* 89:2588-2595.

**Silvestrini P**, y col. (2017) Intramammary inoculation of *Panax ginseng* plays a protective role in *Staphylococcus aureus* infection in a murine model. *Res Vet Sci.* 115:211-220.

**Silvestrini P**, y col. (2023) *In vitro* evaluation of ginsenoside Rg1 immunostimulating effect in bovine mononuclear cells. *Res Vet Sci.* 158:1–12.