

Nutriendo el Sistema Inmune de los Peces

Camilo Pohlenz, Delbert M. Gatlin III

Department of Wildlife and Fisheries Sciences

Texas A&M University

College Station, TX 77843, USA

Teléfono: +1 (979) 847-9330 E-mail: cpohlenz@tamu.edu

Resumen

El estudio del sistema de defensa de los organismos de cultivo es de suma importancia y el entendimiento de cómo nutrir y modular los diferentes componentes del sistema inmunológico es crucial para prevenir, tratar y controlar enfermedades, asegurando así la sustentabilidad y futuro de la acuicultura. La disponibilidad adecuada de nutrientes específicos durante la respuesta inmune juega un papel fundamental en la activación y rendimiento de este sistema ante el combate a un agente invasor. En la presente revisión se proponen resultados positivos del uso de nutrientes específicos y que prometen mayor versatilidad y eficacia en la elaboración de dietas funcionales, haciéndose especial hincapié en cada una de las etapas de la respuesta inmune de los peces.

Palabras clave: Sistema inmune, inmunonutrición, nutrientes funcionales

Introducción

El posicionamiento de la acuicultura como fuente importante de proteína animal para consumo humano en la era actual es un hecho innegable. El cultivo de peces en las últimas décadas ha visto constantemente un crecimiento anual más alto que otras industrias de producción animal (FAO 2012). Aunque las enfermedades son eventos naturales en todos los grupos animales, la intensificación en las técnicas de cultivo ha llevado consigo un aumento importante en la aparición o dispersión de enfermedades infecciosas, convirtiéndose en uno de los principales constrictores del crecimiento de la industria (Klesius, Evans & Shoemaker 2004; Costello 2009). Es por ello que el estudio del sistema de defensa de los organismos de cultivo es de suma importancia y el entendimiento de cómo nutrir y modular los diferentes componentes del sistema inmunológico es crucial para prevenir, tratar y controlar enfermedades, asegurando así la sustentabilidad y futuro de la acuicultura.

Una nutrición adecuada es crítica no sólo para alcanzar niveles óptimos de crecimiento de los peces, sino también para mantener la salud de los mismos (Sealey & Gatlin 2001). Por muchos años, el estudio de la nutrición de peces se enfocó en determinar los requerimientos nutricionales mínimos de diferentes especies de cultivo. Sin embargo, el rol de la nutrición en el manejo de la salud a través de la modulación de la respuesta inmune y resistencia a enfermedades se ha convertido en un área de investigación prioritaria. Dando paso al campo de la inmunonutrición, que puede ser definida como el estudio de mejorar la función inmunológica por medio de nutrientes específicos, que pueden ser a niveles por encima de los requerimientos para un crecimiento normal (Kiron 2012; Oliva-Teles 2012).

Sistema inmune de los peces

El sistema inmune constituye un mecanismo de defensa altamente complejo que utiliza una amplia variedad de componentes individuales (Tort, Balasch & Mackenzie 2003; Bowden 2008). Los peces (teleósteos) poseen un sistema inmune similar al de los vertebrados superiores, aunque evolutivamente menos desarrollado y mucho menos comprendido

(Magnadottir 2006; Uribe, Folch, Enriquez & Moran 2011). Consta de dos grandes ramas que son el sistema inmune innato y el específico (o adaptativo). Las cuales, durante una respuesta de defensa, orquestan una comunicación extremadamente estrecha (Tort *et al.* 2003), fundamental para el éxito de erradicación y protección contra patógenos.

La respuesta inmune es un proceso que envuelve múltiples componentes celulares y humorales de ambas ramas del sistema inmune (Tabla 1), incluyendo citoquinas, proteínas plasmáticas, inmunoglobulinas, mononucleares (macrófagos y linfocitos) así como polimorfonucleares (neutrófilos) (Secombes 2008) y células dendríticas (Bassity & Clark 2012). Sin embargo, una cualidad importante en los peces, es que por el grado de desarrollo evolutivo, la respuesta innata puede llegar a poseer una mayor importancia para la eliminación de un organismo invasor (Magnadottir 2006). Y donde los macrófagos son probablemente las células más importantes en la respuesta inmune de los peces, ya que no solo producen citoquinas, sino que son las principales células comprometidas en la fagocitosis y destrucción de patógenos después del reconocimiento inicial y/o infecciones posteriores (Bayne & Gerwick 2001; Shoemaker, Klesius & Lim 2001). Aunque recientemente se ha descrito la existencia de células dendríticas en peces, la célula presentadora de antígenos por excelencia, aún faltan estudios para una caracterización funcional completa de la misma durante una respuesta inmune (Bassity & Clark 2012).

Tabla 1. Principales componentes de la respuesta inmunitaria de los peces.

Rama	Componentes Celulares	Componentes Humorales	Especificidad
Innato	Barreras físicas (mucosas) Macrófagos Neutrófilos Células dendríticas*	Complemento	Moléculas compartidas por grupos de patógenos
		Lisozima	
		Péptidos antimicrobianos	
		Pentraxinas	
		Inhibidores de proteasas	
Adaptativo (Específico)	Linfocitos B Linfocitos T	Inmunoglobulinas naturales	Epítomos de antígenos específicos
		Inmunoglobulina M	
		Inmunoglobulina D	
		Inmunoglobulina Z/T**	

* Función durante la respuesta innata no está totalmente elucidada en peces. ** No presente en todas las especies.

De igual forma, cabe señalar que la diversidad de especies de peces existentes y/o en cultivo, da cabida a diferencias sustanciales entre algunos componentes importantes del sistema (Uribe *et al.* 2011). Como es el caso de los isotipos de inmunoglobulinas, donde numerosas especies, como la trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), salmón del atlántico, *Salmo salar* (L.), o carpa común, *Cyprinus carpio* (L.) (Zhang, Salinas & Oriol Sunyer 2011) cuentan con tres isotipos, IgM, IgD e IgT/Z, mientras que otras, como el bagre de canal, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), solo dos, la IgM e IgD (Bengtén, Clem, Miller, Warr & Wilson 2006). Sin embargo, aun con estas diferencias, la respuesta a un patógeno invasor es generalmente similar en todas las especies.

Respuesta inmune y metabolismo

Existe una relación constante entre patógenos (principales u oportunistas) tratando de invadir y hospederos limitando dicha invasión. Cuando existe un desbalance en los componentes hospedero-patógeno-ambiente, se dan las condiciones adecuadas para una infección (Bowden 2008), disparando así, una respuesta de defensa (Fig. 1). Aunque la complejidad y la especificidad de las respuestas significa que los límites entre participantes están pobremente definidos, para fines de esta revisión, y en una manera general, la respuesta inmune se puede dividir en 3 etapas, 1) Señal de alerta y detección del patógeno, 2) Fagocitosis, destrucción del patógeno y presentación de antígenos, y 3) Expansión y creación de memoria inmunológica.

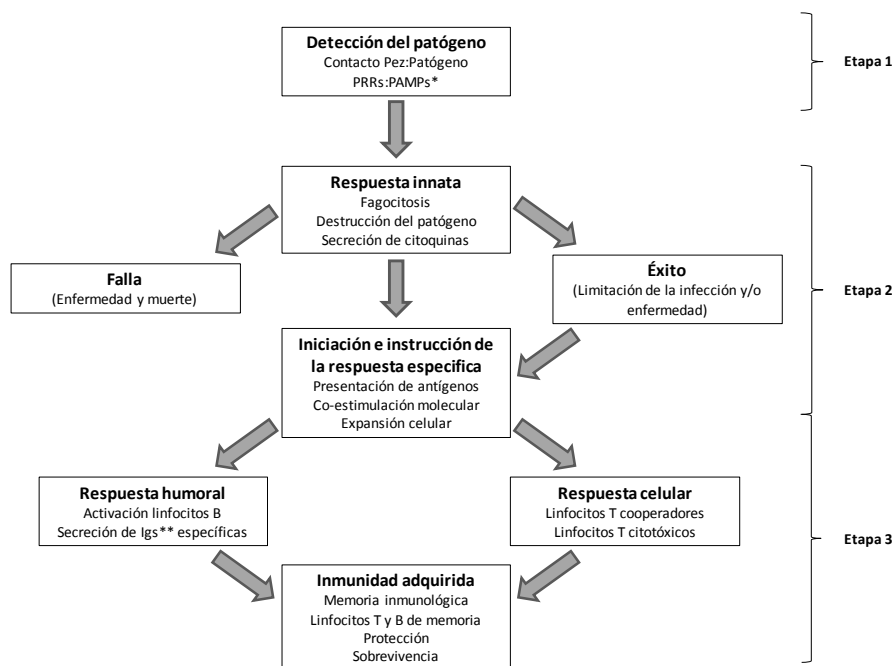


Fig. 1. Esquema general de la respuesta inmune en peces. * PRRs: receptores reconocedores de patrones, PAMPs: patrones moleculares asociados a patógenos. **Igs: inmunoglobulinas, son secretadas por células plasmáticas las cuales se derivan de linfocitos B activados. Modificado de (Shoemaker *et al.* 2001)

La respuesta aguda inicial a una infección (etapa 1 y 2) es probablemente la más importante para la supervivencia de un animal, ya que es competencia del sistema inmune innato, principalmente de los fagocitos, el detectar y activar una respuesta generalizada a la invasión de un patógeno (Bayne & Gerwick 2001; Magnadottir 2006).

La ruptura de la homeostasis y el establecimiento de un estado de defensa y/o enfermedad es un proceso metabólicamente costoso para el hospedero, donde una infección promueve un cambio completo en prioridades metabólicas hacia las necesidades asociadas a la inmunidad (Lochmiller & Deerenberg 2000). En células inmunes quiescentes, la utilización de nutrientes se da a niveles solo indispensables para el mantenimiento celular, sin embargo, durante un desafío inmunológico, la utilización de nutrientes clave por este tipo de células incrementa dramáticamente. Por ejemplo, reportes *in vivo*, sugieren que los

niveles plasmáticos de glutamina disminuyen rápidamente en peces enfermos (Walker, Keast & McBride 1996); e incluso, estudios *in vitro* señalan que la utilización del tipo de amino ácidos dependería de si la respuesta celular es fagocítica o linfocítica (Pohlenz, Buentello, Mwangi & Gatlin 2012b), o bien que un macrófago activado consume energía comparable a la que consume una célula muscular cardíaca a máxima capacidad (Newsholme & Newsholme 1989).

El establecimiento de dicho estado, no sólo puede conducir un cuadro de anorexia, sino que además moviliza las reservas de proteína y energía para soportar la fase inicial aguda de una respuesta inmune, la cual se caracteriza por un estado de hipermetabolismo (Lochmiller & Deerenberg 2000; Wang, Wang, Zhang, Ji, Song, Qiu, Zhou, Wang & Wang 2012), y para sostener la respuesta hasta la resolución de la infección (Sealey & Gatlin 2001). Un resultado típico durante este período es un balance de nitrógeno negativo, el cual puede variar dependiendo de la severidad de la infección (Midtlyng & Lillehaug 1998; Lochmiller & Deerenberg 2000; Lönnström, Rahkonen, Lundén, Pasternack, Koskela & Gröndahl 2001). Además, debido a que la mayoría de los mecanismos de defensa para combatir un patógeno requieren síntesis de proteínas, existe una demanda importante de amino ácidos para mantener dicho proceso (Lochmiller & Deerenberg 2000; Uribe *et al.* 2011; Kiron 2012). Los cual cobra vital importancia en peces, debido a que su historia natural requiere altos niveles de proteína en dieta (NRC 2011).

Bajo este planteamiento, la disponibilidad adecuada de nutrientes específicos durante este proceso hipermetabólico juega un papel fundamental en la activación y rendimiento del sistema inmune ante el combate a un agente invasor.

Nutrición del sistema inmune

La nutrición es también un componente complejo y multidimensional en este tópico, ya que el sistema inmune y la nutrición interactúan en múltiples mecanismos directos o indirectos (Sealey & Gatlin 2001; Oliva-Teles 2012). Tomando en cuenta la variabilidad entre especies antes mencionada y la falta de un entendimiento total del sistema inmune de los

teleósteos, podemos decir que existe un enorme desafío en el estudio de estas interacciones y comprensión de la inmunonutrición (Ponton, Wilson, Holmes, Cotter, Raubenheimer & Simpson 2013). De igual manera, cabe señalar que el uso de un mismo nutriente como modulador del sistema inmune puede arrojar diferentes resultados entre especies o incluso dentro de la misma especie (Dalmo & Bogwald 2008).

Las fuentes endógenas de nutrientes deberían suplir los requerimientos básicos para que el sistema inmune realice sus funciones, así como proteger tejidos de daños colaterales. Sin embargo, en situaciones especiales, proveer nutrientes adicionales a los requeridos para el crecimiento y mantenimiento normal del pez, consigue sostener o mejorar una o más funciones del sistema inmune, lo que da como resultado un mayor grado de efectividad y por lo tanto protección (Sealey & Gatlin 2001; Kiron 2012). En este contexto, existen varias herramientas nutricionales que se pueden implementar como suplementos para lograr este objetivo. A continuación se proponen resultados positivos de los compuestos, que a opinión de los autores, prometen mayor versatilidad y eficacia en la elaboración de dietas funcionales; y se hace hincapié en cada una de las etapas de la respuesta inmune de los peces mencionados anteriormente.

1) *Detección y reconocimiento de patógenos*

El sistema inmune innato reconoce y responde a una amplia variedad de microbios invasores; esto, principalmente mediante el reconocimiento de señales de alerta llamadas “patrones moleculares asociados a patógenos” (PAMPs), por medio de receptores reconocedores de patrones (PRRs) celulares o humorales (Tort *et al.* 2003; Abbas, Lichtman & Pillai 2012). El encuentro de dichos componentes, desata una cascada de secreción de citoquinas (Roher, Callol, Planas, Goetz & MacKenzie 2011) que tienen como fin último la activación de una respuesta inmune, incluyendo el reclutamiento de fagocitos y linfocitos, por medio de quimiotaxis, así como la activación de mecanismos de defensa antimicrobiales celulares o humorales, como el sistema del complemento (Bayne & Gerwick 2001; Abbas *et al.* 2012; Reyes-Cerpa, Maisey, Reyes-López, Toro-Ascuy, Sandino & Imarai 2012).

El proveer ciertos aditivos no digeribles en la dieta, como componentes estructurales de patógenos o productos vegetales, ya sea extractos mixtos o purificados, que sirvan como estas “señales de alerta” han probado ser eficaz en promover la respuesta inicial del sistema inmune (Dalmo & Bogwald 2008). Estudios *in vitro* han demostrado un incremento en la capacidad migratoria de leucocitos con extractos del parásito *Philasterides dicentrarchi*, en rodaballo, *Psetta máxima* (L.) (Leiro, Paramá, Arranz, Álvarez & Sanmartín 2006), y con extractos de alga marina en lenguado europeo, *Solea senegalensis* (Kaup) (Díaz-Rosales, Burmeister, Aguilera, Korbee, Morinigo, Figueroa, Chabrillon, Arijo, Lindequist & Balebona 2005). Mientras que *in vivo*, con suplementación de peptidoglicanos en lenguado del pacífico, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel) (Galindo-Villegas, Fukada, Masumoto & Hosokawa 2006) y alginato de sodio en carpa común (Fujiki & Yano 1997).

Por otro lado, este tipo de aditivos, como mananoligosacáridos, β -glucanos, polisacáridos sulfatados o nucleótidos, pueden promover la expresión y/o secreción de importantes citoquinas pro-inflamatorias y quimiotácticas en diferentes especies, como la interleucina-1beta (IL-1 β), factor de necrosis tumoral alpha (TNF- α), IL-6, IL-8, e interferón-gamma (Leiro *et al.* 2006; Dalmo & Bogwald 2008; Caipang, Lazado, Berg, Brinchmann & Kiron 2011; Roher *et al.* 2011; Lokesh, Fernandes, Korsnes, Bergh, Brinchmann & Kiron 2012; Fierro-Castro, Barrioluengo, López-Fierro, Razquin & Villena 2013; Reyes-Becerril, Guardiola, Rojas, Ascencio-Valle & Esteban 2013). Así como la expresión génica de importantes PRRs como TLR3, TLR5 and TLR9 (Fierro-Castro *et al.* 2013).

2) Incremento fagocitosis, destrucción y presentación de antígenos

La fagocitosis es la internalización de un patógeno con el propósito de destruirlo, y posteriormente, bajo ciertas condiciones, presentar sus antígenos a linfocitos. Este proceso sobreviene inmediatamente después del reconocimiento de un patógeno por parte de un macrófago o neutrófilo (incluso célula dendrítica) (Shoemaker *et al.* 2001). Los fagocitos cuentan con un set de herramientas de destrucción, dependientes o no dependientes de oxígeno, como son anión, superóxido, peróxido de hidrógeno, óxido nítrico, lisozima, entre otras proteasas (Secombes & Fletcher 1992; Tort *et al.* 2003; Uribe *et al.* 2011). Cabe

señalar que aunque se promueva la actividad fagocítica de una célula, no necesariamente se promueve la actividad microbiciida de la misma al mismo tiempo, es por ello que es importante la evaluación de ambos parámetros para obtener un panorama completo del efecto modulador de un nutriente dado (Pohlenz *et al.* 2012b).

Ciertos amino ácidos, juegan un papel crucial en este proceso inmunológico. En bagre de canal, la suplementación *in vitro* e *in vivo* de arginina, incrementa la actividad fagocítica e índice fagocítico de macrófagos, así como la capacidad bactericiida de los mismos (Buentello, Reyes-Becerril, Romero-Geraldo & Ascencio-Valle 2007; Pohlenz *et al.* 2012b). Lo anterior, posiblemente se debe a que la suplementación de arginina eleva los niveles de producción de óxido nítrico, su precursor único, en macrófagos activados (Buentello & Gatlin 1999), un potente compuesto bactericiida en este tipo de células y potente modulador del citoesqueleto (Moffat, Han, Li, Peck, Jy, Ahn, Chu & Bourguignon 1996). De la misma forma, la suplementación de arginina y/o glutamina en dietas de corvina roja, *Sciaenops ocellatus* (L.) (Cheng, Buentello & Gatlin 2011), lobina rayada híbrida, *Morone chrysops* x *M. saxatilis* (Kerby) (Cheng, Gatlin & Buentello 2012), lenguado del pacífico (Galindo-Villegas *et al.* 2006) y lenguado europeo (Costas, Conceição, Dias, Novoa, Figueras & Afonso 2011), incrementa la explosión respiratoria de neutrófilos y/o macrófagos. Aún más, la suplementación de ciertos metabolitos de amino ácidos como β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB, derivado de leucina) aumentan la explosión respiratoria de neutrófilos, así como el potencial bactericiida de macrófagos de trucha arcoíris (Siwicki, Morand, Fuller, Nissen, Goryczko, Ostaszewski, Kazun & Głombski 2003), mientras que poliaminas (derivadas de arginina-ornitina), por lo menos *in vitro*, aumentan la actividad fagocítica y la expresión génica de moléculas importantes para la presentación de antígenos como el complejo mayor de histocompatibilidad-I (MHC-I) y el clúster de diferenciación-8 (CD8) en leucocitos de dorada, *Sparus aurata* (L.) (Reyes-Becerril, Ascencio-Valle, Tovar-Ramirez, Meseguer & Esteban 2011).

Otra alternativa de mejorar la fagocitosis es mediante la modificación de la naturaleza física de la membrana plasmática haciéndola más “fluida” (Calder 1998), y también la alteración en la expresión de receptores envueltos en este proceso celular (Calder, Bond, Harvey,

Gordon & Newsholme 1990; Balfry & Higgs 2001), lo que también puede favorecer a la producción de compuestos antimicrobianos como anión superóxido mediante la modulación de la proteína quinasa C (Balfry & Higgs 2001). Lo anterior se ha demostrado en peces, al proveer ácidos grasos poliinsaturados, n-3 o n-6, o bien vitaminas C y E. Por mencionar algunos, en rodaballo (Roberts, Davies & Pulsford 1995), trucha arcoíris (Kiron, Fukuda, Takeuchi & Watanabe 1995), salmón del atlántico (Verlhac & Gabaudan 1994; Li, Ai, Mai, Xu & Zheng 2013), lenguado del pacífico (Galindo-Villegas *et al.* 2006), roncadador amarillo, *Larmichthys crocea* (Richardson) (Li, Ai, Mai, Xu & Zheng 2012) y dorada (Ortuño, Cuesta, Angeles Esteban & Meseguer 2001).

3) *Expansión y creación de memoria*

La destrucción y procesamiento exitoso de un patógeno invasor, ya sea infección natural o inoculada, lleva consigo la inducción de una respuesta fuerte y duradera de linfocitos de memoria. La manera en la cual la expansión clonal de linfocitos T es inducida y la dimensión de la población celular efectora generada es clave para este proceso (Secombes 2008). La capacidad de crear memoria inmunológica, recae en la activación inicial y en la expansión de linfocitos vírgenes después de presentárseles con el antígeno apropiado, estimulación por citoquinas y co-estimulación molecular a nivel membrana (Secombes 2008; Uribe *et al.* 2011). Así mismo, no obstante la producción de inmunoglobulinas específicas es un componente importante del sistema adaptativo, en peces, la correlación de protección es mínima a menos de que existan títulos circulantes altos (Thune, Hawke, Fernandez, Lawrence & Moore 1997), por lo que una buena activación de linfocitos B para su transformación en células plasmáticas efectoras o bien de memoria es necesaria.

Durante este proceso, la suplementación de nutrientes que funcionen como fuente de energía o precursores de compuestos importantes para la proliferación celular han demostrado ser una opción viable. Resultados *in vitro* demuestran que la suplementación de arginina o glutamina promueve la proliferación de linfocitos T y B de bagre de canal estimulados inespecíficamente (Pohlenz *et al.* 2012b). Igualmente, estudios *in vivo* señalan que alimentos suplementados de arginina (hasta cuatro veces el requerimientos nutricional)

o glutamina, no sólo confieren un aumento en la población de linfocitos B residentes en tejidos en peces vacunados, si no que elevan los títulos de anticuerpos específicos en peces tan pronto como los 7 d post-vacunación. Además de incrementar de manera significativa la proliferación de linfocitos de memoria (Pohlenz, Buentello, Criscitiello, Mwangi, Smith & Gatlin 2012a). Similarmente, la suplementación de HMB en trucha arcoíris promueve el índice de proliferación de ambas poblaciones de linfocitos estimulados inespecíficamente y los niveles totales de inmunoglobulinas en plasma (Siwicky *et al.* 2003). Por otra parte, la suplementación alimenticia de nucleótidos también incrementa títulos de anticuerpos vacunales o naturales y/o la respuesta mitogénica de linfocitos en tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) (Ramadan, Afifi, Moustafa & Samy 1994), salmón del atlántico (Burrells, Williams, Southgate & Wadsworth 2001), lobina rayada híbrida (Li, Lewis & Gatlin 2004) y bagre de canal (Welker, Lim, Yildirim-Aksoy & Klesius 2011).

Por último, de una forma menos entendida, la suplementación de vitaminas puede tener un efecto en la expansión linfocítica y la creación de memoria. Por ejemplo, la suplementación de vitamina C y/o E influencia la proliferación de linfocitos T y B en trucha arcoíris (Verlhac & Gabaudan 1994) o la producción de anticuerpos específicos en salmón del atlántico (Erdal, Evensen, Kaurstad, Lillehaug, Solbakken & Thorud 1991) o chano, *Chanos chanos* (Forsskal) (Azad, Dayal, Poornima & Ali 2007), mientras que en pez perico japonés, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) y perico manchado, *O. punctatus*, (Temminck & Schlegel) la suplementación con carotenoides mejoró la proliferación de linfocitos T (Tachibana, Yagi, Hara, Mishima & Tsuchimoto 1997).

Conclusión

En el presente artículo se ha tratado de plasmar y promover el uso de nutrientes específicos para modular o nutrir el sistema inmune con fin último de mejorar la sanidad y producción en peces de cultivo. El uso de dichos nutrientes se afianza como una herramienta en la elaboración de alimentos funcionales para el uso de la acuicultura y cobra vital importancia en el campo de estudio de reemplazo de harina o aceites de pescado. La gran variedad de peces de cultivo así como la falta de un conocimiento total del sistema inmune de los

mismos arroja un gran desafío en el entendimiento total de la inmunonutrición, por lo que existe un gran campo de investigación por delante en esta área, sobre todo falta definir o ajustar dosificaciones, regímenes alimenticios, tiempos de suplementación, etc. para así poder utilizar estos nutrientes de manera eficaz para beneficio de la industria.

Literatura citada

- Abbas A.K., Lichtman A.H. & Pillai S. (2012) Cellular and molecular immunology, Elsevier Saunders, Philadelphia, USA.
- Azad I.S., Dayal J.S., Poornima M. & Ali S.A. (2007) Supra dietary levels of vitamins C and E enhance antibody production and immune memory in juvenile milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) to formalin-killed *Vibrio vulnificus*. Fish and Shellfish Immunology **23**, 154-163.
- Balfry S.K. & Higgs D.A. (2001) Influence of dietary lipid composition on the immune system and disease resistance of finfish. In: *Nutrition and Fish Health* (ed. by Lim C., Webster C.D.). pp. 213-234, Food Products Press, Binghamton, N.Y.
- Bassity E. & Clark T.G. (2012) Functional identification of dendritic cells in the teleost model, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). PLoS ONE **7**, e33196.
- Bayne C.J. & Gerwick L. (2001) The acute phase response and innate immunity of fish. Developmental and Comparative Immunology **25**, 725-743.
- Bengtén E., Clem L.W., Miller N.W., Warr G.W. & Wilson M. (2006) Channel catfish immunoglobulins: Repertoire and expression. Developmental & Comparative Immunology **30**, 77-92.
- Bowden T.J. (2008) Modulation of the immune system of fish by their environment. Fish and Shellfish Immunology **25**, 373-383.
- Buentello J.A. & Gatlin D.M. (1999) Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish (*Ictalurus punctatus*): influence of dietary arginine and culture media. Aquaculture **179**, 513-521.
- Buentello J.A., Reyes-Becerril M., Romero-Geraldo M.J. & Ascencio-Valle F.J. (2007) Effects of dietary arginine on hematological parameters and innate immune function of channel catfish. Journal of Aquatic Animal Health **19**, 195-203.
- Burrells C., Williams P.D., Southgate P.J. & Wadsworth S.L. (2001) Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture **199**, 171-184.
- Caipang C.M.A., Lazado C.C., Berg I., Brinchmann M.F. & Kiron V. (2011) Influence of alginic acid and fucoidan on the immune responses of head kidney leukocytes in cod. Fish Physiology and Biochemistry **37**, 603-612.
- Calder P. (1998) n-3 Polyunsaturated fatty acids and mononuclear phagocyte function. In: Medicinal Fatty Acids in Inflammation (ed by Kremer J.). pp. 1-27, Birkhäuser Basel.
- Calder P.C., Bond J.A., Harvey D.J., Gordon S. & Newsholme E.A. (1990) Uptake and incorporation of saturated and unsaturated fatty acids into macrophage lipids and their effect upon macrophage adhesion and phagocytosis. Biochemical Journal **269**, 807-814.
- Cheng Z., Buentello A. & Gatlin D.M. (2011) Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture **319**, 247-252.

- Cheng Z., Gatlin D.M. & Buentello A. (2012) Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Aquaculture* **362–363**, 39-43.
- Costas B., Conceição L.E.C., Dias J., Novoa B., Figueras A. & Afonso A. (2011) Dietary arginine and repeated handling increase disease resistance and modulate innate immune mechanisms of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858). *Fish and Shellfish Immunology* **31**, 838-847.
- Costello M.J. (2009) The global economic cost of sea lice to the salmonid farming industry. *Journal of Fish Diseases* **32**, 115-118.
- Dalmo R.A. & Bogwald J. (2008) Beta-glucans as conductors of immune symphonies. *Fish and Shellfish Immunology* **25**, 384-396.
- Diaz-Rosales P., Burmeister A., Aguilera J., Korbee N., Morinigo M.A., Figueroa F.L., Chabrillon M., Arijo S., Lindequist U. & Balebona M.C. (2005) Screening of algal extracts as potential stimulants of chemotaxis and respiratory burst activity of phagocytes from sole (*Solea senegalensis*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* **25**, 9-19.
- Erdal J.I., Evensen Ø., Kaurstad O.K., Lillehaug A., Solbakken R. & Thorud K. (1991) Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids. *Aquaculture* **98**, 363-379.
- FAO (2012) The State of World Fisheries and Aquaculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Fierro-Castro C., Barrioluengo L., López-Fierro P., Razquin B.E. & Villena A.J. (2013) Fish cell cultures as in vitro models of inflammatory responses elicited by immunostimulants. Expression of regulatory genes of the innate immune response. *Fish and Shellfish Immunology* **35**, 979-987.
- Fujiki K. & Yano T. (1997) Effects of sodium alginate on the non-specific defence system of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish and Shellfish Immunology* **7**, 417-427.
- Galindo-Villegas J., Fukada H., Masumoto T. & Hosokawa H. (2006) Effect of dietary immunostimulants on some innate immune responses and disease resistance against *Edwardsiella tarda* infection in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture Science* **54**, 153-162.
- Kiron V. (2012) Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Animal Feed Science and Technology* **173**, 111-133.
- Kiron V., Fukuda H., Takeuchi T. & Watanabe T. (1995) Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **111**, 361-367.
- Klesius P.H., Evans J.J. & Shoemaker C.A. (2004) Warmwater fish vaccinology in catfish production. *Animals Health Research Reviews* **5**, 305-311.
- Leiro J., Paramá A., Arranz J.A., Álvarez M.F. & Sanmartín M.L. (2006) Modulation by extracts of the scuticociliate *Philasterides dicentrarchi* of turbot leucocyte functions and inflammatory cytokine gene expression. *Revista Ibérica de Parasitología* **66**, 55-67.

- Li P., Lewis D.H. & Gatlin D.M., 3rd (2004) Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Fish and Shellfish Immunology* **16**, 561-569.
- Li Q., Ai Q., Mai K., Xu W. & Zheng Y. (2012) In vitro effects of arachidonic acid on immune functions of head kidney macrophages isolated from large yellow croaker (*Larmichthys crocea*). *Aquaculture* **330-333**, 47-53.
- Li Q., Ai Q., Mai K., Xu W. & Zheng Y. (2013) A comparative study: *In vitro* effects of EPA and DHA on immune functions of head-kidney macrophages isolated from large yellow croaker (*Larmichthys crocea*). *Fish and Shellfish Immunology* **35**, 933-940.
- Lochmiller R.L. & Deerenberg C. (2000) Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* **88**, 87-98.
- Lokesh J., Fernandes J.M.O., Korsnes K., Bergh Ø., Brinchmann M.F. & Kiron V. (2012) Transcriptional regulation of cytokines in the intestine of Atlantic cod fed yeast derived mannan oligosaccharide or β -Glucan and challenged with *Vibrio anguillarum* *Fish and Shellfish Immunology* **33**, 626-631.
- Lönnström L.G., Rahkonen R., Lundén T., Pasternack M., Koskela J. & Gröndahl A. (2001) Protection, immune response and side-effects in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) vaccinated against vibriosis and furunculosis. *Aquaculture* **200**, 271-284.
- Magnadottir B. (2006) Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology* **20**, 137-151.
- Midtlyng P.J. & Lillehaug A. (1998) Growth of Atlantic salmon *Salmo salar* after intraperitoneal administration of vaccines containing adjuvants. *Diseases of Aquatic Organisms* **32**, 91-97.
- Moffat F.L., Jr., Han T., Li Z.M., Peck M.D., Jy W., Ahn Y.S., Chu A.J. & Bourguignon L.Y. (1996) Supplemental L-arginine HCl augments bacterial phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Cell Physiology* **168**, 26-33.
- Newsholme P. & Newsholme E.A. (1989) Rates of utilization of glucose, glutamine and oleate and formation of end-products by mouse peritoneal macrophages in culture. *Biochemical Journal* **261**, 211-218.
- NRC (2011) Nutrient requirements of fish and shrimp, The National Academies Press, Washington, D.C.
- Oliva-Teles A. (2012) Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases* **35**, 83-108.
- Ortuño J., Cuesta A., Angeles Esteban M. & Meseguer J. (2001) Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **79**, 167-180.
- Pohlenz C., Buentello A., Criscitiello M.F., Mwangi W., Smith R. & Gatlin D.M., 3rd (2012a) Synergies between vaccination and dietary arginine and glutamine supplementation improve the immune response of channel catfish against *Edwardsiella ictaluri*. *Fish and Shellfish Immunology* **33**, 543-551.
- Pohlenz C., Buentello A., Mwangi W. & Gatlin D.M., 3rd (2012b) Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells. *Fish and Shellfish Immunology* **32**, 762-768.

- Ponton F., Wilson K., Holmes A.J., Cotter S.C., Raubenheimer D. & Simpson S.J. (2013) Integrating nutrition and immunology: A new frontier. *Journal of Insect Physiology* **59**, 130-137.
- Ramadan A., Afifi N.A., Moustafa M.M. & Samy A.M. (1994) The effect of ascogen on the immune response of tilapia fish to *Aeromonas hydrophila* vaccine. *Fish and Shellfish Immunology* **4**, 159-165.
- Reyes-Becerril M., Ascencio-Valle F., Tovar-Ramirez D., Meseguer J. & Esteban M.A. (2011) Effects of polyamines on cellular innate immune response and the expression of immune-relevant genes in gilthead seabream leucocytes. *Fish and Shellfish Immunology* **30**, 248-254.
- Reyes-Becerril M., Guardiola F., Rojas M., Ascencio-Valle F. & Esteban M.Á. (2013) Dietary administration of microalgae *Navicula* sp. affects immune status and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish and Shellfish Immunology* **35**, 883-889.
- Reyes-Cerpa S., Maisey K., Reyes-López F., Toro-Ascuy D., Sandino A.M. & Imarai M. (2012) Fish Cytokines and Immune Response. In: *New Advances and Contributions to Fish Biology* (ed Turker H.). InTech, DOI:10.5772/53504.
- Roberts M.L., Davies S.J. & Pulsford A.L. (1995) The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish and Shellfish Immunology* **5**, 27-38.
- Roher N., Callol A., Planas J.V., Goetz F.W. & MacKenzie S.A. (2011) Endotoxin recognition in fish results in inflammatory cytokine secretion not gene expression. *Innate Immunity* **17**, 16-28.
- Sealey W.M. & Gatlin D.M. (2001) Overview of nutritional strategies affecting the health of marine fish. In: *Nutrition and Fish Health* (ed. by Lim C., Webster C.D.). pp. 103-118, Food Products Press, Binghamton, N.Y.
- Secombes C. (2008) Will advances in fish immunology change vaccination strategies? *Fish and Shellfish Immunology* **25**, 409-416.
- Secombes C.J. & Fletcher T.C. (1992) The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. *Annual Review of Fish Diseases* **2**, 53-71.
- Shoemaker C.A., Klesius P.H. & Lim C. (2001) Immunity and disease resistance in fish. In: *Nutrition and Fish Health* (ed. by Lim C., Webster C.D.). pp. 149-162, Food Products Press, Binghamton, N.Y.
- Siwicki A.K., Morand M., Fuller J., Nissen S., Goryczko K., Ostaszewski P., Kazun K. & Głombski E. (2003) Influence of feeding the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) on the non-specific cellular and humoral defence mechanisms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Ichthyology* **19**, 44-48.
- Tachibana K., Yagi M., Hara K., Mishima T. & Tsuchimoto M. (1997) Effects of feeding of β -carotene-supplemented rotifers on survival and lymphocyte proliferation reaction of fish larvae (Japanese parrotfish (*Oplegnathus fasciatus*) and Spotted parrotfish (*Oplegnathus punctatus*)): preliminary trials. *Hydrobiologia* **358**, 313-316.
- Thune R.L., Hawke J.P., Fernandez D.H., Lawrence M.L. & Moore M.M. (1997) Immunization with bacterial antigens: edwardsiellosis. *Development of Biologics Standards* **90**, 125-134.
- Tort L., Balasch J. & Mackenzie S. (2003) Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. *Inmunología* **22**, 277-286.

- Uribe C., Folch H., Enriquez R. & Moran G. (2011) Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinaria Medica* **56**, 486-503.
- Verlhac V. & Gabaudan J. (1994) Influence of vitamin C on the immune system of salmonids. *Aquaculture Research* **25**, 21-36.
- Walker S.P., Keast D. & McBride S. (1996) Distribution of glutamine synthetase in the snapper (*Pagrus auratus*) and implications for the immune system. *Fish Physiology and Biochemistry* **15**, 187-194.
- Wang X., Wang L., Zhang H., Ji Q., Song L., Qiu L., Zhou Z., Wang M. & Wang L. (2012) Immune response and energy metabolism of *Chlamys farreri* under *Vibrio anguillarum* challenge and high temperature exposure. *Fish and Shellfish Immunology* **33**, 1016-1026.
- Welker T.L., Lim C., Yildirim-Aksoy M. & Klesius P.H. (2011) Effects of dietary supplementation of a purified nucleotide mixture on immune function and disease and stress resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture Research* **42**, 1878-1889.
- Zhang Y.A., Salinas I. & Oriol Sunyer J. (2011) Recent findings on the structure and function of teleost IgT. *Fish and Shellfish Immunology* **31**, 627-634.