

El sistema inmune de los teleósteos (IV): Principales factores que afectan a la respuesta inmune

Imanol Ruiz, Ana Belén Fernández, Ignacio de Blas

Laboratorio de Ictiopatología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza
c/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza (España)
e-mail: imaruiz@unizar.es

Introducción

El desarrollo de la respuesta inmune se ve afectado por numerosos procesos que dependen del propio hospedador, del agente patógeno o del medio externo. No obstante, en el presente trabajo nos centraremos en los factores intrínsecos, dependientes del propio hospedador, y en los factores extrínsecos, dependientes del medio externo, puesto que los dependientes del agente patógeno, aunque muy importantes en los procesos de vacunación o inmunización específica, no son objeto de nuestro estudio.

Factores intrínsecos

La especie animal es un factor fundamental en la respuesta inmune, pero dentro de ella se pueden observar grandes variaciones debidas a otros factores intrínsecos.

1. Individuo

Se ha observado una gran variabilidad individual en la respuesta inmune de los peces, lo que se refleja en la alta variación en los títulos de anticuerpos y en los mecanismos inmunes inespecíficos que presentan grupos de peces homogéneos sometidos al mismo tratamiento y que habitan en las mismas condiciones (Olivier y cols., 1985; Zeeman, 1986; Olesen y Jørgensen, 1986; Michel y cols., 1990; Anderson, 1992).

2. Edad

Los peces teleósteos no son inmunológicamente competentes hasta varias semanas después de la eclosión. En el desarrollo de los órganos linfohemopoyéticos, aunque los macrófagos aparecen antes que los linfocitos, en salmón Atlántico se ha demostrado que la actividad linfocitaria no se detecta hasta que los alevines comienzan a comer y el riñón y el bazo se desarrollan, lo que ocurre aproximadamente entre los 20 y 30 días post-eclosión (Zapata, 1985; Razquin y cols., 1990). Por tanto, si existe exposición al antígeno en los estados larvarios, es posible que se establezca tolerancia inmunológica y ese organismo no sea capaz de desarrollar una respuesta inmune frente a dicho antígeno (Ellis, 1981).

3. Estado fisiológico

- **Esmoltificación:** En juveniles pertenecientes a especies de carácter anádromo como el salmón, la esmoltificación supone un intenso estado de estrés, que sumado a las alteraciones que se producen en la epidermis, conlleva un debilitamiento en el sistema defensivo (Hatai y Hoshiai, 1992; Zapata y cols., 1992). Durante este desarrollo son muchos los cambios fisiológicos preparatorios para la migración al mar. El estrés producido por ellos se traduce en aumentos del cortisol plasmático acompañados de la supresión de la respuesta inmune y de una reducción en la resistencia a las enfermedades (Maule y cols., 1987).
- **Reproducción:** En adultos, el sistema inmune se ve gravemente comprometido en la maduración sexual y durante la época reproductiva, momento en el que se da una conjunción de factores que afectan negativamente a las defensas del organismo. En las especies migratorias se suma el efecto negativo que produce el estrés debido a la migración hacia la cabecera del río en busca de lugares idóneos de desove, en el que el esfuerzo realizado y la falta de nutrición afecta notablemente a la capacidad de resistencia de los salmónidos (Maule y cols., 1996). Los cambios fisiológicos que se producen implican un incremento en los niveles plasmáticos de corticoides y esteroides sexuales (Pickering y Christie, 1980; Slater y Schreck, 1993; Maule y cols., 1996), hormonas capaces de afectar el funcionamiento del sistema inmune, y modificaciones en la epidermis, que influyen en la resistencia superficial. Finalmente, las temperaturas invernales tampoco favorecen los mecanismos inmunes.

4. Estrés

El estrés es una respuesta adaptativa del organismo que produce cambios en el sistema de defensa, pero que cuando es muy agudo o prolongado en el tiempo conlleva la supresión de la respuesta o un desarrollo desmesurado de la misma, lo que puede desequilibrar al resto de sistemas fisiológicos y desencadenar el desarrollo de enfermedad (Ellis, 1981). La primera respuesta del organismo frente a un factor estresante, es la liberación de corticosteroides, siendo el cortisol su principal componente (Fletcher, 1986). Sin embargo, aunque se sabe que la relación entre el estrés, la función inmune y la resistencia a enfermedades está regulada hormonalmente (Maule y cols., 1996), esta es una relación muy complicada. Dependiendo de la naturaleza, intensidad y duración de los factores estresantes, los efectos en la resistencia a la enfermedad pueden ser completamente diferentes (Pegg y cols., 1995).

Aunque el estrés es un estado del organismo, los factores desencadenantes de mismo pueden ser procesos biológicos propios de la especie, o factores externos. Entre los procesos biológicos, la esmoltificación, la migración durante la época reproductiva, o la reproducción misma, en el caso de los salmónidos son causas de estrés. Así mismo, puede desencadenarse por el transporte, manejo, temperatura excesivamente alta o cambios bruscos de la misma, alta densidad de población, inadecuados niveles de oxígeno, niveles subletales de materiales tóxicos, mala calidad del agua, etc. (Zapata, 1985; Fletcher, 1986; Zapata y cols., 1992; Maule y cols., 1996).

5. Niveles hormonales

- **Corticosteroides:** Los corticosteroides, principalmente el cortisol, parecen tener capacidad citolítica y de alteración de los patrones de distribución de los leucocitos. Producen marcada linfopenia, monocitopenia y neutrofilia, así como depleción celular en órganos linfoides y retraso en la respuesta inmune primaria (Ellis, 1981; Zapata y cols., 1992; Bly y Clem, 1992). Por otra parte, inhiben la actividad microbicida intracelular de los fagocitos, disminuyen la respuesta humoral, probablemente por reducción del número de células formadoras de anticuerpos, e inhiben la proliferación linfoide estimulada por mitógenos, así como su migración *in vitro*. Todo ello puede explicar su acción antiinflamatoria. No obstante, al igual que en mamíferos, la acción de los corticoides dependerá de la concentración, estado fisiológico del animal y tiempo de exposición (Ellis, 1981; Fletcher, 1986; Zapata y cols., 1992; Maule y cols., 1996).
- **Hormonas sexuales:** Las concentraciones de esteroides sexuales se incrementan notablemente durante la migración hacia el río de las especies de carácter anádromo y en la maduración sexual, aunque el perfil de estas hormonas difiere mucho entre macho y hembra (Maule y cols., 1996). Estas hormonas tienen importancia en los salmónidos, en los que producen una regresión notable o incluso desaparición del timo, y prolongada linfopenia (Zapata y cols., 1992).

Sin embargo, no queda muy claro de que forma afectan estas hormonas a la respuesta inmune. Algunos estudios han intentado encontrar una correlación entre las concentraciones de esteroides sexuales y distintos parámetros asociados a la respuesta inmune específica (células productoras de anticuerpos) e inespecífica (actividad lisozima), pero los resultados no han sido concluyentes (Maule y cols., 1996). En contraposición a esto, Slater y Schrek (1993), describieron el efecto negativo de la testosterona sobre la producción de células productoras de anticuerpos *in vitro*.

Por otra parte, en los machos sexualmente maduros los andrógenos producen hiperplasia de la epidermis y descenso en la secreción de mucus, lo que puede contribuir a un descenso en las defensas a nivel superficial (Richards y Pickering, 1979).

6. Nutrición

Se ha demostrado que las deficiencias vitamínicas de ácido ascórbico y vitamina E, afectan negativamente a los mecanismos de la inmunidad, principalmente a los de naturaleza inespecífica como la actividad de los macrófagos o el complemento. Sin embargo, altos niveles vitamínicos en la dieta por encima de los requerimientos diarios tampoco producen mayor estimulación de los mismos (Fletcher, 1986; Blazer, 1991).

La composición de los ácidos grasos de la dieta también puede influir en la actividad fagocítica, sobre todo a bajas temperaturas, mediante alteración de la fluidez de membrana, por efectos sobre mediadores de inmunidad, o por una combinación de ambos procesos, aunque esto no está muy claro (Blazer, 1991).

Factores extrínsecos

1. Temperatura

Es uno de los factores medioambientales que más influye no solo en el sistema inmune, sino globalmente en la vida de los animales poiquiloterms, del cual depende su temperatura corporal, afectando a todos los procesos del metabolismo y actividad celular, incluyendo los mecanismos de la respuesta inmune. La influencia de la temperatura es una de las principales diferencias entre el sistema inmune de homeoterms y poiquiloterms (O'Neill, 1985; Bly y Clem, 1992).

Aunque los peces pueden vivir en un amplio rango de temperaturas, consideradas fisiológicas, los mecanismos inmunes no funcionan igual en todas ellas. Las óptimas para cada especie se han considerado como las más altas dentro de las fisiológicas, o la temperatura de verano del hábitat natural de la especie. Para los salmónidos se estima que por debajo de 4°C, se compromete gravemente la capacidad de respuesta, mientras que para otras especies de aguas más cálidas, las temperaturas mínimas de funcionamiento del sistema inmune están en 12 ó 14°C (Ellis, 1981; Bly y Clem, 1992). Sin embargo, las temperaturas mínimas que encontramos en la bibliografía se han deducido casi exclusivamente mediante el estudio de la respuesta humoral específica, que no equivale a respuesta inmune global ni a protección inmune.

A bajas temperaturas, se alcanzan menores concentraciones de anticuerpos y su producción se retrasa en el tiempo (Rijkers y cols., 1980) o incluso se inhibe (O'Neill, 1980). No obstante, los resultados encontrados son muy controvertidos, lo que puede deberse a que la respuesta varía enormemente dependiendo de la especie animal, de la naturaleza del antígeno y de la adaptación previa a la temperatura. (Avtalion, 1981; Ellis, 1981; Bly y Clem, 1992).

En estudios realizados in vivo e in vitro, se ha demostrado que es la activación de las células T que colaboran en la producción de inmunoglobulinas, el mecanismo más afectado por las bajas temperaturas (Clem y cols., 1984; Miller y Clem, 1984). Sin embargo, la captura y procesamiento del antígeno así como la proliferación de células B son independientes de la temperatura (Vallejo y cols., 1992). Por ello, este factor es fundamental en el desarrollo de la respuesta frente a antígenos T-dependientes, pero no tanto cuando se trata de antígenos T-independientes.

Otros estudios demuestran que son los descensos bruscos de temperatura (por ejemplo, de 23°C a 11°C en pez gato), los que inhiben la actividad de células T, células B y la producción de anticuerpos, mientras que la aclimatación durante 5 semanas de los peces a ese cambio o descensos menos bruscos (hasta 17°C), permiten el desarrollo de la respuesta, aunque retardada (Clem y cols., 1984; Miller y Clem, 1984; Bly y Clem, 1991b).

El efecto de la temperatura sobre el fenómeno de memoria inmunológica tampoco está claro, pero algunos autores afirman que aunque la respuesta primaria se vea comprometida por una temperatura baja, el fenómeno de memoria aparece siempre que la inmunización secundaria se produzca a temperatura óptima (Miller y Clem, 1984; Bly y Clem, 1991a). Esto demuestra que la inmunización a baja temperatura no produce tolerancia inmunológica.

Se ha observado que la protección inferida por vacunaciones realizadas en salmón a 2, 4 ó 6°C, puede ser mayor que a temperaturas más elevadas, a pesar de que el título de anticuerpos sea menor (Lillehaug y cols., 1993). De ello se deduce que intervienen

otros mecanismos inmunes, generalmente inespecíficos que dependiendo del patógeno pueden ser más importantes, y que no dependen tanto de la temperatura. Es el caso de la fagocitosis, que depende más de la fluidez de membrana que de reacciones enzimáticas, y por ello se ve menos influenciada por la temperatura que otros procesos como la actividad microbicida intracelular (MacArthur y Fletcher, 1985; O'Neill, 1985; Blazer, 1991). Sin embargo, la temperatura puede influir indirectamente sobre los mecanismos inespecíficos puesto que afecta a la opsonización.

2. Estación del año

La influencia de la estación en la inmunidad de los peces queda patente en diversos trabajos, que concluyen que aunque la temperatura se mantenga constante, la respuesta inmune es menor en invierno, ya que la producción de anticuerpos es más lenta y menor (Ellis, 1981).

Los niveles de poblaciones linfoides de sangre periférica encontrados en los peces son menores en invierno y mayores en verano como regla general, aunque en trucha común, los recuentos más altos se han producido en primavera y otoño y los más bajos en invierno y verano. Así mismo se han observado cambios estacionales en los órganos linfoides, en los que se produce una regresión transitoria, particularmente del timo, durante el periodo estival y en invierno, aunque existen diferencias entre especies (Zapata y cols., 1992).

Las causas de variaciones estacionales en el sistema inmune se han atribuido a factores medioambientales, principalmente la temperatura y el fotoperiodo, que producen cambios en los ritmos circadianos (Zeeman, 1986). Sin embargo, aunque estos se mantengan constantes, se producen cambios estacionales, que algunos investigadores atribuyen a ritmos neuroendocrinos endógenos, que aunque influenciados por factores externos, son esenciales en la regulación estacional. En ellos cobran especial importancia los corticosteroides y las hormonas esteroideas sexuales (Fletcher, 1986; Zapata y cols., 1992).

También se ha constatado variación estacional en algunos de los mecanismos inespecíficos. Entre ellos, la actividad lítica del complemento y los niveles de lisozima en plasma o suero, que son menores en los meses invernales a bajas temperaturas. Por otra parte, los niveles en el suero de proteína C-reactiva son mínimos en invierno (en estado fisiológico) y máximos en verano, pero sin embargo la afinidad de este compuesto por su ligando es mayor en invierno cuando la concentración es menor (Fletcher, 1986; Bly y Clem, 1992).

3. Compuestos tóxicos o contaminantes

- **Metales pesados:** Mediante diversos estudios experimentales se ha demostrado que altas concentraciones de metales pesados como el cadmio, mercurio o cobre, tienen efecto inmunosupresor, constatado por el descenso de la actividad de macrófagos y los niveles de lisozima (Fletcher, 1986; Elsasser y cols., 1986), que en parte es producido por su efecto estresante, pero en parte por acción directa del contaminante (Elsasser y cols., 1986).
- **Contaminantes inorgánicos:** Insecticidas organoclorados, organofosforados o herbicidas, que pueden acumularse en los cauces fluviales a través del

drenaje de agua desde los campos de cultivo en los que se utilizan, pueden producir leucopenia, atrofia de órganos linfoides y supresión de la respuesta humoral (Dunier y Siwicki, 1993).

- **Contaminantes de origen orgánico:** Fenoles, tributilos, hidrocarburos aromáticos y bifenilos policlorados tienen efectos negativos sobre la respuesta humoral, la capacidad de los macrófagos y producen leucopenia. Sin embargo, la mayoría de las veces esto depende del tiempo de exposición y concentración del contaminante, puesto que los peces son capaces de adaptarse a exposiciones crónicas de compuestos estables presentes a baja concentración (Dunier y Siwicki, 1993).

También se ha demostrado que dosis subletales de amoníaco, nitritos, cobre y cianuro aumentan la susceptibilidad a enfermedades como la saprolegniosis, debido en parte a la inmunodepresión que inducen por estrés. En el caso del cobre, es un compuesto que independientemente del estrés, es tóxico para el sistema inmune en el que produce un descenso de la respuesta inmune humoral y celular, incluyendo el nivel de linfocitos circulantes y la respuesta fagocítica agudo (Carballo y Muñoz, 1991; Carballo y cols., 1995).

Bibliografía

1. Anderson, D.P. (1992) Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Ann. Rev. Fish Dis.*, 2:281-307
2. Avtalion, R.R. (1981). Environmental control of the immune response in fish. *CRC Critical Reviews in Environmental Control*, 11:163-188
3. Blazer, V.S. (1991). Piscine macrophage function and nutritional influences: A review. *J. Aquat. Anim. Health*, 3:77-86
4. Bly, J.E. y L.W. Clem (1991a). Temperature-mediated processes in teleost immunity: in vivo low temperature immunization does not induce tolerance in channel catfish. *Fish Shellfish Immunol.*, 1:229-231
5. Bly, J.E. y L.W. Clem (1991b). Temperature-mediated processes in teleost immunity: in vivo immunosuppression induced by in vivo low temperature in channel catfish. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 28:365-377
6. Bly, J.E. y L.W. Clem (1992). Temperature and teleost immune functions. *Fish Shellfish Immunol.*, 2:159-171
7. Carballo, M. y M.J. Muñoz (1991). Effect of sublethal concentrations of four chemicals on susceptibility of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to saprolegniosis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57:1813-1816
8. Carballo, M., M.J. Muñoz, M. Cuellar y J.V. Tarazona (1995). Effects of waterborne copper, cyanide, ammonia, and nitrite on stress parameters and changes in susceptibility to saprolegniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Appl. Environ. Microbiol.*, 61:2108-2112
9. Clem, L.W., E. Faulmann, N.W. Miller, C.F. Ellsaesser, C.J. Lobb y M.A. Cuchens (1984). Temperature-mediated processes in teleost immunity: differential effects of in vitro and in vivo temperatures on mitogenic responses of channel catfish lymphocytes. *Dev. Comp. Immunol.*, 8: 313-322
10. Dunier, M. y A.K. Siwicki (1993). Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish: a review. *Fish Shellfish Immunol.*, 3:423-438
11. Ellis, A.E. (1981). Stress and the modulation of defence mechanisms in fish. En: *Stress and Fish*. A.D. Pickering. Academic Press. Londres. 147-169
12. Elsasser, M.S., B.S. Roberson y F.M. Hetrick (1986). Effects of metals on the chemiluminescent response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) phagocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 12:243-250
13. Fletcher, T.C. (1986). Modulation of nonspecific host defenses in fish. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 12:59-67
14. Hatai, K. y G. Hoshiai (1992). Mass mortality in cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) due to *Saprolegnia parasitica* Coker. *J. Wildlife Dis.*, 28:532-536
15. Lillehaug, A., A. Ramstad, K. Bekken y L.J. Reitan (1993). Protective immunity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) vaccinated at different water temperatures. *Fish Shellfish Immunol.*, 3:143-156

16. MacArthur, J.I. y T.C. Fletcher (1985). Phagocytosis in Fish. En: Fish Immunology. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres. 29-46
17. Maule, A.G., C.B. Schreck y S.L. Kaattari (1987). Changes in the immune system of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during the parr-to-smolt transformation and after implantation of cortisol. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 44:161-166
18. Maule, A.G., R.Schrock, C. Slater, M.S. Fitzpatrick y C.B. Schreck (1996). Immune and endocrine responses of adult chinook salmon during freshwater immigration and sexual maturation. Fish Shellfish Immunol., 6:221-233
19. Michel, C., R. Gonzalez y S. Avrameas (1990). Opsonizing properties of natural antibodies of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Biol., 37:617-622
20. Miller, N.W. y L.W. Clem (1984). Temperature-mediated processes in teleost immunity: differential effects of temperature on catfish in vitro antibody responses to thymus-dependent and thymus-independent antigens. J. Immunol., 133:2356-2359
21. O'Neill, J.G. (1980). Temperature and the primary and secondary immune responses of three teleosts, *Salmo trutta*, *Cyprinus carpio* and *Notothenia rossii*, to MS2 bacteriophage. En: Phylogeny of Immunological Memory. M.J. Manning. Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam. 123-130
22. O'Neill, J.G. (1985). An in vitro study of polymorphonuclear phagocytosis and the effect of temperature. En: Fish Immunology. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres. 47-56
23. Olesen, N.J. y P.E.V. Jørgensen (1986). Quantification of serum immunoglobulin in rainbow trout *Salmo gairdneri* under various environmental conditions. Dis. aquat. Org., 1:183-189
24. Olivier, G., T.P.T. Evelyn y R. Lallier. (1985). Immunity to *Aeromonas salmonicida* in coho salmon (*Oncorhynchus kitsutch*) induced by modified Freund's complete adjuvant: its non-specific nature and the probable role of macrophages in the phenomenon. Dev Comp Immunol 9:419-432
25. Pegg, J.R., S.K. Balfry, L. Gordon, J.R. Roome, y G.K. Iwama (1995). Stress, immune function and disease resistance in juvenile salmonids. Bull. Aquacul. Assoc. Canada, 4:28-34
26. Pickering, A.D. Y Christie, P. 1980. Sexual differences in the incidence and severity of ectoparasitic infestation of the brown trout, *Salmo trutta* L. J. Fish Biol., 16:669-683
27. Razquin, B.E., A.Castillo, P. López-Fierro, F.Álvarez, A. Zapata y A.J. Villena (1990). Ontogeny of IgM-producing cells in the lymphoid organs of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: an immuno and enzyme-histochemical study. J Fish Biol., 36:159-173
28. Richards, R.H. y A.D. Pickering (1979). Changes in serum parameters of *Saprolegnia*-infected brown trout, *Salmo trutta* L. J Fish Dis 2:197-206
29. Rijkers, G.T., E.M.H. Frederix-Wolters y W.B. Van Muiswinkel (1980). The immune system of cyprinid fish. Kinetics and temperature dependence of antibody-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*). Immunology, 41:91-97
30. Slater, C.H. y C.B. Schreck (1993). Testosterone alters immune response of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Gen. Comp. Endocrinol., 89:291-298
31. Vallejo, A.N., N.W. Miller, N.E. Harvey, M.A. Cuchens, G.W. Warr, L.W. Clem (1992). Cellular pathway(s) of antigen processing and presentation in fish APC: endosomal involvement and cell-free antigen presentation. Dev. Comp. Immunol., 3:51-65
32. Zapata, A. (1985). Inmunología de peces teleósteos. En: Primer curso teórico-práctico sobre acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 123-205
33. Zapata, A.G., A. Varas y M. Torroba (1992). Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates. Immunol. Today, 12:142-147
34. Zeeman, M. (1986). Modulation of the immune response in fish. Vet. Immunol. Immunopathol., 12:235-241

