

Immunología de los peces óseos. Revisión

Teleost fish immunology. Review

Miguel Rubio-Godoy^a

RESUMEN

Los peces óseos poseen sistemas inmunitarios capaces de llevar a cabo respuestas humorales y celulares tanto innatas como específicas; esencialmente, los sistemas defensivos de los peces teleósteos tienen los mismos componentes que los de los mamíferos, a quienes anteceden evolutivamente. En esta revisión se describen los componentes de los sistemas inmunitarios de los teleósteos, enfatizando las particularidades presentes en los peces mas no en los mamíferos, cuyos sistemas defensivos se conocen en mayor detalle. El estudio de la inmunología de los peces es relevante para fines tanto básicos como aplicados. Por la vertiente básica, es importante para comprender el origen y la evolución del sistema inmunitario de los vertebrados superiores. Por la vertiente aplicada, a pesar de que hay algunas vacunas comerciales para proteger peces de interés comercial contra algunas bacterias y virus, ampliar el conocimiento del sistema inmunitario de estos organismos permitiría incrementar la productividad e inocuidad de la acuicultura, mediante el desarrollo de nuevos métodos de estimulación inmunitaria y vacunación eficaces.

PALABRAS CLAVE: Peces teleósteos, Inmunidad innata, Inmunidad adquirida.

ABSTRACT

Bony fishes possess immune systems capable of humoral and cellular responses, both innate and specific; essentially, defense systems of teleost fishes have the same components as vertebrate defense systems, which they antecede evolutionarily. This review describes the components of teleost immune systems, emphasizing particularities present in fish but not in mammals, whose defensive mechanisms are known in greater detail. The study of fish immunity is relevant for both basic and applied purposes. On the one hand, knowledge of fish immunology is important to elucidate the origin and evolution of the immune system of higher vertebrates. On the practical side, although some commercial vaccines are available to protect fishes against viruses and bacteria, rising knowledge of fish immunology would enable increasing the yield and inocuity of aquaculture, through the development of novel methods of immune stimulation and vaccination.

KEY WORDS: Teleost fish, Innate immunity, Acquired immunity.

INTRODUCCIÓN

Los peces constituyen un grupo de organismos interesantes para estudiar el origen y la evolución de los sistemas inmunitarios presentes en los vertebrados (subphylum Vertebrata), porque los sistemas inmunitarios “completos”, es decir, capaces de desarrollar respuestas inmunitarias adaptativas o adquiridas, aparecieron con los peces cartilaginosos (clase Chondrichthyes) y los peces óseos (clase Osteichthyes; también llamados infraclase Teleostei) hace unos 450 millones de

INTRODUCTION

Fish are an interesting group of organisms to study the origin and evolution of immune systems found in vertebrates (subphylum Vertebrata), because “full” immune systems (i.e. systems capable of developing adaptive or acquired immune responses) appeared with the cartilaginous (class Chondrichthyes) and bony fishes (class Osteichthyes; also known as infraclass Teleostei) about 450 million years ago and are present in their evolutionary descendants: all other jawed organisms (superclass

Recibido el 12 de junio de 2008. Aceptado para su publicación el 15 de septiembre de 2009.

^a Instituto de Ecología, A.C., Red de Biología Evolutiva; km 2.5 ant carretera a Coatepec, Xalapa, Veracruz 91070, México. Tel (228) 842 1849; fax (228) 818 7809. miguel.rubio@inecol.edu.mx

años y están presentes en sus descendientes evolutivos: todos los demás organismos mandibulados (superclase Gnathostomata), que incluye a anfibios, reptiles, aves y mamíferos⁽¹⁻³⁾. En contraste, los peces sin mandíbulas (superclase Agnatha), cuyos únicos representantes extantes son las lampreas y los mixinos o mixinos, parecen carecer por completo de respuestas inmunitarias adaptativas. Se ha llamado el “big bang” de la inmunología al hecho de que la inmunidad adaptativa aparentemente haya aparecido de la nada en el linaje de los peces óseos. Las más recientes hipótesis relativas al origen de los sistemas inmunitarios⁽¹⁻⁶⁾ proponen que los organismos unicelulares primigenios ya tenían la capacidad de identificar y deshacerse de tanto sustancias tóxicas como de microbios que pretendieran invadirlos. Los efectores de estos mecanismos defensivos de primera línea los podemos todavía encontrar en organismos unicelulares (bacterias y protozoarios) y forman la base de la inmunidad innata o inespecífica. Estas defensas primarias descansan en la capacidad de reconocer rasgos comunes a los patógenos más frecuentes sin necesidad de haber estado previamente expuestos a los mismos, y está presente en todos los animales (las plantas tienen un sistema análogo). Las células y moléculas efectoras de la inmunidad innata acuden al sitio de infección, produciendo una respuesta inflamatoria, cosa que ocurre en todos los animales multicelulares. El “big bang” inmunitario se dio en los peces óseos cuando surgió un segundo sistema defensivo basado en los glóbulos blancos de la sangre (linfocitos). Estas células tienen una exquisita capacidad de reconocer desafíos antigénicos particulares, activarse en su presencia, y mantenerse en el cuerpo como memoria inmunológica; son estas particularidades de los linfocitos las que caracterizan a la inmunidad específica o adquirida.

El objetivo de esta revisión bibliográfica es esbozar el funcionamiento de las defensas inmunitarias innatas y adquiridas de los peces óseos, describiendo tanto sus componentes humorales como celulares – se enfatizan las particularidades presentes en los teleósteos mas no en los mamíferos, cuyos sistemas defensivos se conocen en mayor detalle⁽²⁾. Los estudios a fondo sobre los sistemas inmunitarios

Gnathostomata) including amphibians, reptiles, birds and mammals⁽¹⁻³⁾. In contrast, jawless fishes (superclass Agnatha), whose only extant representatives include lampreys and hagfishes, seem to completely lack adaptive immune responses. The fact that adaptive immunity seems to have appeared out of nowhere in the lineage of bony fishes is referred to as the “big bang” of immunology. The most recent hypotheses relating to the origin of immune systems⁽¹⁻⁶⁾ propose that primeval unicellular organisms possessed the ability to identify and destroy both toxic substances and microbes likely to invade them. The effectors of these first-line defensive mechanisms can still be found in unicellular organisms (bacteria and protozoa) and form the basis of innate or unspecific immunity. These primary defenses rely on the capacity to recognize traits common to the most frequent pathogens without the need of having been previously exposed to them, and is present in all animals (plants have an analogous mechanism). Effector cells and molecules of innate immunity rush to the site of infection and produce an inflammatory reaction, a phenomenon which takes place in all multicellular animals. The immunological “big bang” took place in bony fishes, with the appearance of a second defensive system based on white blood cells (lymphocytes). These cells possess an exquisite capacity to recognize particular antigenic insults, to become activated in their presence, and to remain in the body as immunological memory; these peculiarities of lymphocytes characterize specific or acquired immunity.

The aim of this review is to outline the function of innate and acquired immune defenses in bony fish, describing both humoral and cellular components – emphasis is given to particularities present in fishes but not in mammals, whose defensive mechanisms are known in greater detail⁽²⁾. In-depth immune studies have been primarily carried out on teleost fish species of commercial importance, mainly in the fish farming industry. Thus, a considerable body of work exists on the immunology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Atlantic salmon *Salmo salar*, channel catfish *Ictalurus punctatus*, carp *Cyprinus carpio*, tilapia

de los peces óseos se han llevado a cabo en especies de interés comercial, principalmente en la industria acuícola. Así, hay una considerable cantidad de información sobre la inmunología de la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*, el salmón atlántico *Salmo salar*, el bagre *Ictalurus punctatus*, la carpa *Cyprinus carpio*, la tilapia *Oreochromis mossambicus*, la brama marina *Dicentrarchus labrax*, la dorada *Sparus aurata*, el rodaballo *Scophthalmus maximus*, y la anguila *Anguilla anguilla*⁽⁷⁻¹¹⁾. Recientemente se ha caracterizado en gran detalle el funcionamiento inmunitario de un organismo experimental cuyo genoma completo se conoce, el pez zebra *Danio rerio*^(12,13). Como ejemplo de la aplicación práctica del conocimiento del sistema inmunitario de los peces óseos, finaliza este texto un repaso de algunas de las vacunas contra patógenos piscícolas disponibles comercialmente.

INMUNIDAD HUMORAL NO ESPECÍFICA

La piel de los peces constituye la primera línea defensiva contra los patógenos, así como las membranas mucosas que recubren las branquias y el tracto gastrointestinal. Aparte de las escamas, espinas y la secreción de sustancias tóxicas que pueden ocurrir en la superficie del pez, el moco que recubre la piel es un importante mecanismo defensivo, pues contiene una variedad de compuestos antimicrobianos y probablemente antiparasitarios: lisozima y proteasas, factores del complemento, proteína reactiva C, lectinas, interferones, eicosanoides, transferrina, péptidos como piscidinas, somatostatina y ACTH, y diversos carbohidratos^(8,9,14-18). Varios de los productos presentes en el moco también se localizan en el suero, a partir del cual se pueden transportar hacia la superficie del pez. Alternativamente, los componentes pueden ser sintetizados por células epiteliales o mucosas⁽¹⁹⁾.

Probablemente el factor defensivo innato de los peces mejor estudiado es el complemento^(1,2,20), que está compuesto por una serie de proteínas séricas que tienen tres funciones defensivas primordiales: a) recubrir patógenos y partículas ajenas al cuerpo para facilitar su reconocimiento y destrucción por parte de las células fagocíticas

Oreochromis mossambicus, sea bream *Dicentrarchus labrax*, sea bass *Sparus aurata*, turbot *Scophthalmus maximus*, and eel *Anguilla anguilla*⁽⁷⁻¹¹⁾. Recently, the immune function of an experimental organism whose whole genome is known, the zebra fish *Danio rerio*, has been characterized in great detail⁽¹³⁾. As an example of the practical application of the knowledge of bony fish immunity, this text ends with a review of some of the commercial vaccines available against common fish pathogens.

NON-SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY

The skin of fish forms the first line of defense against pathogens, as do the mucosal membranes covering the gills and the gastrointestinal (GI) tract. Apart from any scales, spines or secreted toxic substances that may be present on skin, mucus covering the skin, the gills and the GI tract is also involved in defensive mechanisms, as it contains several antimicrobial and possibly antiparasitic compounds: lysozyme and proteases, complement factors, C-reactive protein, lectins, interferons, eicosanoids, transferrin, peptides such as piscidins, somatostatin and ACTH, and various carbohydrates^(8,9,14-18). Several of the products found in fish mucus are also present in serum, from where they can be transported to the fish surface. Alternatively, they can be synthesized by epithelial or mucous cells⁽¹⁹⁾.

Probably the best studied of these innate factors is the complement^(1,2,20), which is a series of serum proteins responsible for three primary immune functions: a) to cover pathogens and foreign particles to facilitate their recognition and destruction by phagocytic cells (opsonization); b) to initiate inflammatory reactions by stimulating the contraction of smooth muscle, vasodilation and chemoattraction of leucocytes; and c) to lyse pathogens through the perforation of their membranes. The third component of the complement series (C3) is present in all vertebrates and is the key element in the activation of the system. C3 can be activated upon contact with antigen/antibody complexes, which is called the classical (activation) pathway of complement; or independently of immunoglobulin when exposed to

(opsonización); b) iniciar las respuestas inflamatorias estimulando la contracción del músculo liso, la vasodilatación y la quimioatracción de leucocitos; y c) lisar patógenos mediante la perforación de sus membranas. El tercer componente del complemento (C3) está presente en todos los vertebrados y es la pieza clave en la activación del sistema. El C3 puede ser activado al entrar en contacto con complejos de antígeno/anticuerpo, lo que se conoce como la vía clásica de activación del complemento; o también independientemente de la inmunoglobulina, cuando es expuesto a ciertos antígenos (generalmente polímeros con secuencias repetidas), lo que se conoce como la vía alternativa de activación del complemento^(16,21,22). Una vez activado, el C3 se separa en los componentes C3a y C3b: C3b es el principal promotor de la fagocitosis en los peces y los mamíferos, y se ha demostrado que los macrófagos y los neutrófilos de varias especies de teleosteos tienen receptores para complemento⁽¹⁶⁾. Al igual que en los mamíferos, el complemento de los teleosteos forma un complejo terminal de ataque a la membrana, que lisa y opsoniza la célula blanco. En general, el complemento de los peces tiene actividad bactericida contra cepas no virulentas de bacterias Gram-negativas, pero no contra bacterias Gram-positivas ni cepas virulentas de bacterias Gram-negativas⁽¹⁶⁾. La capacidad del suero de los peces para lisar parásitos *in vitro* se ha demostrado en una variedad de sistemas: los ejemplos incluyen monogéneos⁽²³⁻²⁵⁾, digéneos⁽²⁶⁾, kinetoplástidos⁽²⁷⁾, ciliados^(18,28) y myxozoos⁽²⁹⁾. Hay evidencia que sugiere que la producción de moléculas de complemento se puede activar en respuesta a infecciones, como en el caso de carpas retadas con el ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*⁽³⁰⁾. Recientemente, se demostró la transferencia materna de factores del complemento a los huevos, embriones y alevines de la trucha arcoíris⁽³¹⁾. Sin embargo, varios de los componentes que participan en la inmunidad innata, incluyendo el factor del complemento C3, son sintetizados por los embriones de la carpa a partir de las 12 h posteriores a la fertilización⁽³²⁾.

La lisozima es una enzima lítica que actúa sobre el péptidoglicano de las paredes celulares bacterianas, especialmente el de las bacterias Gram-

certain antigens (usually polymers with repeated sequences), which is referred to as the alternative activation pathway of complement^(16,21,22). Once activated, C3 is split into C3a and C3b: C3b is the main phagocytosis-promoting factor in fish and mammals, and macrophages and neutrophils in a number of teleost species have been shown to have receptors for complement⁽¹⁶⁾. As in mammals, teleost complement forms a terminal membrane attack complex, which lyses and/or opsonizes the target cell. In general, fish complement displays bactericidal activity against non-virulent strains of Gram-negative bacteria, but not against Gram-positive bacteria or virulent strains of Gram-negative bacteria⁽¹⁶⁾. The *in vitro* ability of fish serum to lyse parasites via the alternative pathway of complement has been demonstrated in a number of systems: examples include monogeneans⁽²³⁻²⁵⁾, digeneans⁽²⁶⁾, kinetoplastids⁽²⁷⁾, ciliates^(18,28) and myxozoans⁽²⁹⁾. Some evidence suggests that the production of complement molecules can be activated in response to infection, as found in carp challenged with the ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*⁽³⁰⁾. Recently, the maternal transfer of several complement factors to eggs, embryos and hatchlings was shown in rainbow trout⁽³¹⁾. However, various components participating in innate immunity, including complement factor C3, are synthesized by carp embryos as soon as 12 h post-fertilization⁽³²⁾.

Lysozyme is a lytic enzyme acting on the peptidoglycan component of the bacterial cell wall, especially of Gram-positive bacteria; it can also act as an opsonin⁽⁸⁾. In Gram-negative bacteria, lysozyme may become effective after complement and other factors have disrupted the outer cell wall, exposing the inner peptidoglycan layer.

C-reactive protein is a serum protein, the concentration of which increases significantly upon exposure to bacterial endotoxin. It is an acute-phase protein associated with the early response to tissue damage or infection. It is an opsonin, activating the complement system upon binding to the bacterial surface⁽³³⁾.

Lectins are involved in the agglutination of microorganisms or the precipitation of soluble

positivas; también puede actuar como opsonina⁽⁸⁾. En bacterias Gram-negativas, la lisozima puede actuar una vez que el complemento y otros factores hayan dañado la pared celular, exponiendo la capa interna de péptidoglicano.

La proteína reactiva C es una proteína sérica cuya concentración aumenta significativamente tras la exposición a endotoxinas bacterianas. Es una proteína de fase aguda asociada con la respuesta temprana al daño tisular o la infección. La proteína reactiva C es una opsonina que activa al complemento al unirse a la superficie bacteriana⁽³³⁾.

Las lectinas participan en la aglutinación de microorganismos o en la precipitación de sustancias solubles^(34,35). Son proteínas o glicoproteínas de origen no inmunitario, que se unen a carbohidratos particulares y de este modo operan como moléculas de reconocimiento⁽¹⁶⁾. También ocurren en el suero, donde se les conoce como hemagglutininas. Es importante destacar que las lectinas unidas a antígenos son capaces de activar al sistema del complemento⁽²⁾. La transferrina es una lectina que se une al hierro, e inhibe el crecimiento bacteriano al limitar la disponibilidad de este nutriente esencial⁽⁸⁾.

Los interferones (IFN) constituyen una familia heteróloga de proteínas que confieren protección contra las infecciones virales⁽³⁶⁾. Se categorizan en tres grupos: IFN α e IFN β son producidas por las células infectadas por virus, y se piensa que cualquier tipo celular puede producirlos. IFN γ es una citocina producida por los linfocitos T. La estructura genética y proteínica y las propiedades funcionales de los interferones de los peces son muy similares a las de los interferones de los mamíferos⁽³⁷⁾.

Los eicosanoides incluyen a las prostaglandinas, los tromboxanos y los leucotrienos, y son potentes mediadores proinflamatorios. Participan en varios procesos fisiológicos, incluyendo la hemostasis, la regulación inmunitaria y la inflamación, y pueden incrementar la fagocitosis y actuar como quimioatrayentes para los neutrófilos^(8,36,38).

Las piscidinas son péptidos antimicrobianos de 22 aminoácidos formando una hélice alfa, se localizan

substances^(34,35). They are proteins or glycoproteins of non-immune origin, which bind to particular carbohydrates, thus operating as recognition molecules⁽¹⁶⁾. They also occur in serum, where they are referred to as haemagglutinins. It is important to mention that antigen-bound lectins are capable of activating the complement system⁽²⁾. Transferrin is an iron-binding lectin, which inhibits bacterial growth by limiting the availability of this essential nutrient⁽⁸⁾.

Interferons (IFN) are a heterologous family of proteins that confer resistance to viral infections⁽³⁶⁾. They are categorized in three groups: IFN α and IFN β are produced by cells infected by viruses, and it is thought that any cellular type can produce them. IFN γ is a cytokine produced by T-cells. The gene structure, protein structure and functional properties of fish interferons show great similarity to those of mammalian interferons⁽³⁷⁾.

Eicosanoids include prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes, and are potent proinflammatory mediators. They participate in several physiological processes, including haemostasis, immune regulation and inflammation, and can increase phagocytosis and act as chemoattractants for neutrophils^(8,36,38).

Piscidins are antimicrobial peptides of 22 aminoacids forming an alpha helix, are located in mucous tissues and immune cells, and have been identified in several fish species within the order Perciformes, which for instance includes tilapia, seabream and seabass⁽³⁹⁾. Being Perciformes the most numerous and evolutionarily advanced order of extant vertebrates, it is likely that piscidins are present in a great variety of fishes – although they have not been detected in other fish orders of commercial relevance, like Salmoniformes (salmon and trout), Cypriniformes (carp), Pleuronectiformes (flatfishes) and Anguilliformes (eels)⁽⁴⁰⁾.

The importance to fish of immunity mediated through complement and other innate components is evidenced by two examples. The first is that being poikilothermic organisms, when fish are exposed to very low temperatures, they cannot properly activate some adaptive immune functions,

en tejidos mucosos y células inmunitarias, y han sido identificadas en varias especies de peces pertenecientes al orden Perciformes, que incluye por ejemplo a la tilapia, la brama y la lubina⁽³⁹⁾. Al ser el orden Perciformes el más grande y evolutivamente avanzado de los teleósteos, además del más numeroso orden de vertebrados extantes, es probable que las piscidinas estén presentes en una gran variedad de especies de peces – aunque no se han detectado en otros órdenes de peces de importancia comercial, como los Salmoniformes (salmones y truchas), los Cypriniformes (carpas), los Pleuronectiformes (peces planos) ni los Anguilliformes (anguilas)⁽⁴⁰⁾.

La importancia para los peces de la inmunidad mediada por complemento y otros componentes de la inmunidad innata se evidencia con dos ejemplos. El primero es que al ser organismos poiquilotermos, cuando los peces se encuentran a temperaturas muy bajas no son capaces de activar adecuadamente algunas funciones inmunitarias adaptativas, como la producción de anticuerpos^(41,42) y dependen sobre todo de las defensas innatas. El segundo ejemplo es que cuando la inmunidad adquirida no funciona cabalmente, se incrementa la actividad del complemento y los factores de coagulación, como se demostró en peces zebra *D. rerio* mutantes, incapaces de producir anticuerpos normalmente⁽⁴³⁾.

INMUNIDAD CELULAR NO ESPECÍFICA

El componente celular de las defensas inmunitarias no específicas de los peces óseos incluye a las células fagocíticas móviles (macrófagos y granulocitos) que son reclutadas de la sangre y de los tejidos linfoides; a las células eosinofílicas granulares (*eosinophilic granular cells*; EGC), que son menos móviles y están presentes en sitios mucosos como el intestino o las branquias, y son consideradas análogas a las células cebadas (*mast cells*) de los mamíferos; y a las células citotóxicas no específicas (*non-specific cytotoxic cells*; NCC), consideradas el equivalente funcional en los peces de las células asesinas naturales (*natural killer*; NK) de los mamíferos^(8,36). Para reconocer los desafíos antigénicos e iniciar una respuesta inmunitaria, las células arriba mencionadas cuentan

like antibody production^(41,42), and rely mostly on innate defenses. The second example is that when acquired immunity does not operate fully, the activity of complement and clotting factors is increased, as demonstrated in mutant zebra fish *D. rerio*, incapable of producing antibodies normally⁽⁴³⁾.

NON-SPECIFIC CELLULAR IMMUNITY

The cellular component of non-specific immune defenses includes the mobile phagocytic cells (macrophages and granulocytes) recruited from the blood and lymphoid tissues; the less motile eosinophilic granular cells (EGC), which occur at mucosal sites such as the gut or the gills and are considered analogous to mammalian mast cells; and the non-specific cytotoxic cells of fish (NCC) which are considered to be equivalent functionally to the mammalian natural killer (NK) cells^(8,36). To recognize antigens and initiate immune responses, the cell types mentioned above possess diverse receptors. Toll-like receptors are transmembrane proteins present in cells mediating innate immunity which enable recognition of non-self repetitive patterns⁽⁴⁴⁾. Although toll-like receptors have been shown to be involved in non-specific immune responses in fish⁽¹⁵⁾, these are found in all animals. There are receptors from the immunoglobulin (Ig) superfamily regulating innate immunity which up to date have only been detected in fish: the novel immune-type receptors (NITR)⁽⁴⁵⁾. Although structurally analogous to lymphocyte B immunoglobulin, NITR are not rearranged like antibodies.

Like the majority of non-mammalian animals, teleosts lack bone marrow and blood-cell production (hematopoiesis) primarily occurs in the kidney^(1,19,46,47), the organ where hematopoietic stem cells are located⁽⁴⁸⁾. A further difference between mammals and fish is that, instead of lymphatic nodes, teleosts possess extensive reticules to capture blood-borne particles, mainly in the kidney and spleen, organs where populations of macrophages and lymphocytes capable of initiating immune responses are found⁽⁴⁶⁾.

Non-specific cellular immunity comprises three main defensive mechanisms, which are outlined in the following section: inflammation, phagocytosis and

con diversos receptores. Los receptores tipo-toll (*toll-like receptors*) son proteínas transmembranales presentes en las células encargadas de la inmunidad innata que permiten el reconocimiento de patrones repetitivos ajenos⁽⁴⁴⁾, mismos que aunque se ha demostrado que están involucrados en las respuestas no específicas de los peces⁽¹⁵⁾, se encuentran en todos los animales. Existen también receptores de la súperfamilia de las inmunoglobulinas (Ig) reguladores de la inmunidad innata que a la fecha sólo se ha detectado en peces óseos: los “noveles receptores tipo-inmunitario” (novel immune-type receptor, NITR) y los “noveles transcritos semejantes a la inmunoglobulina” (novel immunoglobulin-like transcript, NILT)⁽⁴⁵⁾. Aunque estructuralmente son similares a las Ig de los linfocitos B, estos receptores no se re-arreglan como los anticuerpos.

Como la mayoría de los animales no mamíferos, los teleósteos carecen de médula ósea, y la producción de células sanguíneas (hematopoyesis) se da principalmente en el riñón^(1,19,46,47), órgano en el que se localizan las células madre hematopoyéticas⁽⁴⁸⁾. Otra diferencia notable entre los mamíferos y los peces es que, en vez de ganglios linfáticos, los teleósteos tienen una extensa red para atrapar partículas acarreadas en la sangre, principalmente en el riñón y el bazo, órganos donde se localizan poblaciones de macrófagos y linfocitos capaces de iniciar una respuesta inmune⁽⁴⁶⁾.

La inmunidad celular no específica comprende tres mecanismos defensivos: la inflamación, la fagocitosis y la citotoxicidad no específica. La inflamación es una respuesta que involucra a granulocitos, monocitos/macrófagos y linfocitos, y sigue a la exposición a un desafío antigénico. Posteriormente al contacto con el antígeno, que puede ser de origen químico, bacteriano, micótico o parasítico, el área afectada recibe mayor irrigación sanguínea, seguida de un aumento en la permeabilidad capilar y la migración de los leucocitos de la sangre hacia el tejido. Esta migración es estimulada por una variedad de factores derivados tanto del huésped como de los patógenos. Los quimioatrayentes producidos por el huésped incluyen al fragmento del complemento

non-specific cytotoxicity. Inflammation is a response involving granulocytes, monocytes/macrophages and lymphocytes which follows exposure to an antigenic insult. Upon contact with the antigen, which can be of chemical, bacterial, mycotic, or parasitic origin, the affected area receives an increased supply of blood, followed by increased capillary permeability and migration of leucocytes from the bloodstream into the tissue. A variety of host-derived and pathogen-derived factors stimulate this migration. Host chemoattractants include the complement fragment C5a, leukotrienes and some cytokines, which are secreted by granulocytes, the first cellular types to accumulate around the antigenic insult. Additionally, fish leucocytes may be responding to soluble factors secreted by the pathogen; for instance, fish leucocytes have been shown to exhibit chemokinetic responses to bacterial, nematode, acanthocephalan and cestode products. Finally, it is probable that macrophages are activated in response to mechanical damage to tissues, as these cells are activated *in vitro* upon contact with collagen⁽⁴⁹⁾. Inflammatory reactions start rapidly, within an hour of exposure to the insult, and reach their peak after about 2 d. If the insult is controlled, inflammatory reactions subside after a few days. However, if the insult persists, inflammation can become chronic and lead to the formation of granulomas or the encapsulation of the antigenic source^(8,36).

The process of phagocytosis in teleosts is very similar to that observed in higher vertebrates: it includes the stages of antigen recognition, attachment, engulfment, killing and digestion. Both neutrophils and macrophages are the effector cells; macrophages in addition cooperate with lymphocytes through antigen presentation and cytokine secretion. Phagocytes possess a variety of killing mechanisms, both non-oxidative and oxidative; the most important one is the oxygen-dependent respiratory burst, which results in the formation of reactive oxygen species (ROS), including superoxide anion, hydrogen peroxide and hypochlorous acid. Phagocytosis is enhanced by opsonization; thus, lectins, C-reactive protein, complement and antibodies facilitate phagocytosis. The killing abilities of phagocytes are modulated by host-derived factors, such as IFN- γ

C5a, leucotrieno y algunas citocinas, que son secretadas por los granulocitos, el primer tipo celular que se acumula en torno al desafío antigénico. Adicionalmente, es probable que los leucocitos respondan a factores solubles secretados por los patógenos; por ejemplo, se ha demostrado que los linfocitos de los peces muestran respuestas quimiocinéticas hacia productos bacterianos, de nematodos, de cestodos y de acantocéfalos. Finalmente, es probable que los macrófagos se activen en respuesta al daño mecánico de los tejidos, pues estas células se activan *in vitro* al entrar en contacto con colágeno⁽⁴⁹⁾. Las respuestas inflamatorias pueden iniciar rápidamente, al cabo de una hora de la exposición al desafío, y alcanzan el pico después de unos dos días. Sin embargo, si el desafío persiste, la inflamación puede ser crónica y conducir a la formación de granulomas o al encapsulamiento de la fuente antigénica^(8,36).

El proceso de la fagocitosis en los teleosteos es muy similar al observado en los vertebrados superiores: incluye las etapas de reconocimiento, unión, incorporación, destrucción y digestión del antígeno. Las células efectoras son los neutrófilos y los macrófagos; los macrófagos además colaboran con los linfocitos por medio de la presentación de antígenos y la secreción de citocinas. Los fagocitos poseen una variedad de mecanismos destructores, tanto oxidativos como no oxidativos; el más importante es el incremento del estallido respiratorio dependiente de oxígeno (*oxygen-dependent respiratory burst*), que resulta en la formación de especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*; ROS), como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el ácido hipocloroso. La fagocitosis se estimula mediante la opsonización; por ello, las lectinas, la proteína reactiva C, el complemento y los anticuerpos facilitan la fagocitosis. La capacidad destructiva de los fagocitos es modulada por factores producidos por el huésped, como el IFN- γ y el factor activador de macrófagos (*macrophage-activating factor*; MAF), que incrementan la respuesta respiratoria de las células y su habilidad de matar microorganismos^(8,21,36). Evidencia reciente sugiere que los distintos fagocitos de los peces, como los granulocitos acidofílicos y los macrófagos, difieren en su habilidad de

and macrophage-activating factor (MAF), which enhance the cells' respiratory burst and their ability to kill microorganisms^(8,21,36). Recent evidence suggests that distinct fish phagocytes, such as acidophilic granulocytes and macrophages, differ in their ability to recognize and eliminate pathogens and in their capacity to regulate adaptive immune responses⁽⁵⁰⁾. A further difference between these phagocytes is that acidophilic granulocytes use piscidins to destroy bacteria within phagosomes, whereas macrophages do not⁽⁴⁰⁾.

Eosinophilic granular cells (EGC) are thought to be functionally equivalent to the mast cells of higher vertebrates, since they can be degranulated experimentally⁽⁵¹⁻⁵³⁾. EGC are uncommon in the blood, but are found in high numbers in the connective tissue of skin, gill and gut; they have been shown to degranulate after exposure to bacterial antigens and this is followed by an increase of histamine levels in blood⁽⁵³⁾. EGC also release piscidins upon degranulation⁽⁵⁴⁾.

Non-specific cytotoxic cells (NCC) have been detected in peripheral blood, peritoneal fluid, thymus, spleen and kidney, and have been shown to be cytotoxic to a range of normal and transformed cell lines of both mammalian and fish origins, and to virus-infected cells and parasitic protozoa^(8,55).

SPECIFIC HUMORAL IMMUNITY

Fish have been shown to have lymphocyte subpopulations analogous to the mammalian B and T cells. Teleost B lymphocytes primarily present immunoglobulin (Ig) of the IgM class, with a heavy chain that is quite similar to the mammalian μ -chain^(1,2). However, recently a further two heavy chain isotypes have been identified, IgD and IgT, although they have not been completely characterised functionally^(56,57). IgD is thought to be located in the cell membrane of B cells, where it might act as a receptor.

Immunoglobulins produced against an antigen may result in protective responses against it. The most direct protective mechanism is the neutralization of small molecular weight molecules, such as bacterial toxins. The multivalent binding capacity of

reconocer y eliminar patógenos y en su capacidad de regular la respuesta inmunitaria adaptativa⁽⁵⁰⁾. Otra diferencia entre estos fagocitos es que los granulocitos acidofílicos emplean piscidinas para destruir bacterias dentro de los fagosomas, mas no así los macrófagos⁽⁴⁰⁾.

Se piensa que las células eosinofílicas granulares (*eosinophilic granular cells*, EGC) son funcionalmente equivalentes a las células cebadas de los vertebrados superiores, pues se puede inducir su desgranulación experimentalmente⁽⁵¹⁻⁵³⁾. Las EGC son poco frecuentes en la sangre, pero se localizan en gran cantidad en el tejido conectivo de la piel, las branquias y el intestino; y se ha demostrado que posteriormente a la exposición a antígenos bacterianos y parasitarios, las EGC se desgranulan y que posteriormente hay un aumento en la concentración de histamina en la sangre⁽⁵³⁾. Las EGC también liberan piscidinas al desgranularse⁽⁵⁴⁾.

Se han detectado células citotóxicas no específicas (*non-specific cytotoxic cells*, NCC) en la sangre periférica, el fluido peritoneal, el timo, el bazo y el riñón de los peces; y se ha demostrado que son citotóxicas en contra de una serie de líneas celulares normales y transformadas de origen tanto mamífero como teleosteo, así como contra células infectadas por virus y protozoarios parásitos^(8,55).

INMUNIDAD HUMORAL ESPECÍFICA

Se ha demostrado que los peces tienen subpoblaciones de linfocitos, análogos a los linfocitos B y T de los mamíferos. Los linfocitos β de los teleosteos primordialmente presentan inmunoglobulinas (Ig) de la clase IgM, con una cadena pesada bastante parecida a la cadena μ de los mamíferos^(1,2). Sin embargo, recientemente se describieron dos isotipos más en peces óseos, IgD e IgT, que no han sido completamente caracterizados funcionalmente^(56,57). Se piensa que la IgD sólo se localiza en la membrana celular de las células β , en donde quizás funcione como receptor.

La producción de Ig en contra de un antígeno puede resultar en una respuesta protectora en su contra. El mecanismo protector más directo consiste

inmunoglobulin enables it to agglutinate and/or precipitate soluble antigens. Antibodies also act as opsonins, by coating antigens and promoting phagocytosis. Additionally, antigen binding elicits conformational changes in the Fc region, which enable it to activate the complement system via the classical pathway⁽⁸⁾.

An important aspect of the specific immune response is that of immunological memory, which results in more rapid and pronounced production of antibodies upon a secondary exposure to the same antigen; this of course is a prerequisite for successful vaccination^(58,59). Effective fish vaccines against several bacterial pathogens are available, and are crucial to large scale fish aquaculture⁽⁵⁸⁾. For instance, there are formulations protecting fish against 17 common bacterial infections, including vibriosis (caused by *Listonella anguillarum* and *Vibrio* spp.), furunculosis (*Aeromonas salmonicida*), yersiniosis (*Yersinia ruckeri*), enteric septicemia of catfish (*Edwardsiella ictaluri*) and bacterial kidney disease (*Renibacterium salmoninarum*), among others⁽⁵⁸⁾. In contrast, there are five commercial vaccines available against viruses⁽⁵⁸⁾, and only experimental ones against parasites; examples include preparations that confer partial protection against monogenean worms⁽⁶⁰⁻⁶²⁾, hemoflagelates⁽¹⁸⁾ and ciliates (63). As is the case for many other physiological processes in poikilotherm organisms, the kinetics of antibody production in fishes is highly temperature-dependent; at sub-optimal temperatures, immunoglobulin production can cease altogether⁽⁴¹⁾.

The first appearance of IgM in lymphocytes varies considerably among fish species⁽⁶⁴⁾. Generally, the first appearance of B-lymphocytes harboring superficial Ig is later in marine species compared to fresh water species. Rainbow trout and channel catfish show IgM positive lymphocytes at about 1 wk after hatching. Marine species like sea bass, spotted wolffish and cod show the first appearances of surface IgM 1-10 wk after hatching. Transfer of maternal antibody to eggs, embryos and hatchlings has been demonstrated in several species; examples include plaice, tilapia, carp, sea bass and salmon, but not cod⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾.

en la neutralización de moléculas de pequeño peso molecular, como las toxinas bacterianas. La capacidad multivalente de unión de la Ig le permite aglutinar y precipitar antígenos solubles. Los anticuerpos también actúan como opsoninas, recubriendo antígenos y promoviendo su fagocitosis. Adicionalmente, la unión al antígeno resulta en cambios conformacionales de la región Fc, que permiten la activación del sistema del complemento por medio de la vía clásica⁽⁸⁾.

Un aspecto importante de la respuesta inmunitaria específica de los peces óseos es la memoria inmunológica, que conduce a una producción más rápida y pronunciada de anticuerpos tras una exposición secundaria al mismo antígeno; esto, por supuesto, es un prerrequisito para la vacunación efectiva^(58,59). Existen vacunas efectivas contra diversos patógenos bacterianos, y son cruciales para la acuicultura a gran escala⁽⁵⁸⁾. Por ejemplo, hay formulaciones que protegen a los peces contra 17 padecimientos bacterianos comunes, incluyendo vibriosis (causada por *Listonella anguillarum* y *Vibrio* spp.), furunculosis (*Aeromonas salmonicida*), yersiniosis (*Yersinia ruckeri*), septicemia entérica del bagre (*Edwardsiella ictaluri*) y enfermedad renal bacteriana (*Renibacterium salmoninarum*), entre otras⁽⁵⁸⁾. En contraste, sólo hay cinco vacunas comerciales contra virus⁽⁵⁸⁾, y algunas vacunas experimentales contra parásitos; los ejemplos incluyen preparaciones que inducen protección parcial contra gusanos monogéneos⁽⁶⁰⁻⁶²⁾, hemoflagelados⁽¹⁸⁾ y ciliados⁽⁶³⁾. Al igual que muchos otros procesos fisiológicos en los organismos poiquiloterms, la cinética de la producción de anticuerpos en los peces es altamente dependiente de la temperatura; a temperaturas fuera del rango óptimo, puede cesar por completo la producción de Ig⁽⁴¹⁾.

La primera aparición de IgM en los linfocitos varía considerablemente entre las especies de peces⁽⁶⁴⁾. En general, la primera aparición de células B con Ig en la superficie es más tardía en peces marinos que en peces de agua dulce. La trucha arcoíris y el bagre presentan linfocitos B positivos a la IgM más o menos una semana después de eclosionar, mientras que en especies marinas como el pez lobo

Mucosal surfaces are extensive in fishes: mucus covers external surfaces as well as internal ones. For this reason, the relationships between the mucosal and the systemic components of the immune system are interesting. That they are related is apparent from the fact that fish do develop detectable antibody levels after immersion in solutions of soluble and suspensions of particulate antigens; and these immunoglobulins can be detected in the gut, the bile, the gill mucus and the skin^(67,68). Although some evidence suggests that antibodies found in mucus are slightly different structurally to serum immunoglobulins⁽⁶⁹⁾, no distinct class of secretory immunoglobulin analogous to the mammalian IgA has been described for fish.

SPECIFIC CELLULAR IMMUNITY

Specific cell-mediated immune responses have been demonstrated in both elasmobranches (sharks and rays) and teleost fishes. In both fish types, phenomena suggesting the presence of cytotoxic T cells have been characterized: allograft rejection, graft-versus-host reaction (GVHR), delayed hypersensitivity reaction, and cell-mediated cytotoxicity against allogeneic target cells⁽⁷⁰⁾. Specific cellular immunity depends on cells bearing MHC class I receptors presenting antigens to CD8⁺ T lymphocytes.

Most information on *in vivo* cell-mediated immunity has come from transplantation experiments demonstrating host responses characterized by specificity and memory⁽⁷¹⁾. For example, GVHR were demonstrated to follow the injection of allogenic triploid cells into tetraploid hosts, which were killed by the graft within a month^(70,72). Delayed (type IV) hypersensitivity reactions are also a cell-mediated immune phenomenon, which has been shown to take place after exposing fish to bacterial antigens⁽⁷¹⁾ and to the protozoan parasites *Cryptobia salmositica*⁽⁷³⁾ and *Ichthyophthirius multifiliis*⁽⁷⁴⁾. Since specific cell-mediated immune responses are restricted to MHC class I molecules, they may play a role in the recognition of viral antigens presented by infected cells⁽⁷⁰⁾. Recently, viral DNA vaccination was demonstrated to induce cytotoxic responses to virus-infected MHC class I-matched targets⁽⁵⁵⁾.

y el bacalao, la primera aparición de IgM en la superficie de las células se da de 1-10 semanas después de la eclosión. Se ha demostrado la transferencia materna de anticuerpos a huevos, embriones y alevines en varias especies de peces; los ejemplos incluyen al lenguado, la tilapia, la carpa, la dorada y el salmón, pero no el bacalao⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾.

Las mucosas son extensas en los peces: las superficies externas y varias internas están recubiertas de moco. Por esta razón, es relevante la relación entre los componentes mucosos y sistémicos del sistema inmunitario. Es evidente que ambos están relacionados, pues los peces desarrollan niveles detectables de anticuerpos después de ser sumergidos en soluciones de antígenos solubles o en suspensiones de antígenos particulados; y estos anticuerpos pueden ser detectados en el intestino, la bilis, el moco de las branquias y la piel^(67,68). A pesar de que hay evidencia que sugiere que la estructura de los anticuerpos presentes en el moco es ligeramente diferente a la de los anticuerpos séricos, no se ha detectado en peces una clase de Ig secretoria, análoga al isotipo IgA de los mamíferos⁽⁶⁹⁾.

INMUNIDAD CELULAR ESPECÍFICA

Se ha demostrado que tanto los peces elasmobranquios (tiburones y rayas) como los peces óseos tienen respuestas inmunitarias celulares específicas. En todos ellos se han caracterizado fenómenos que sugieren la presencia de células T citotóxicas: rechazo a alotrasplantes, reacción injerto contra huésped (*graft-versus-host reaction*; GVHR), hipersensibilidad retardada y citotoxicidad mediada por células en contra de células alogénicas⁽⁷⁰⁾. La inmunidad celular específica depende de células portadoras de receptores MHC clase I que sean capaces de presentar antígenos a los linfocitos T CD8 positivos.

La mayor parte de la información sobre la inmunidad mediada por células proviene de experimentos de trasplantes que demuestran *in vivo* la ocurrencia de respuestas caracterizadas por su especificidad y memoria⁽⁷¹⁾. Por ejemplo, se demostró la ocurrencia de GVHR en carpas al inyectar células alogénicas triploides a huéspedes tetraploides, a quienes el trasplante mató al cabo

Interactions between immune cells are mediated not only by direct cell-to-cell contact, but also through the release of soluble factors (cytokines). Fish cells release several cytokines analogous to mammalian cytokines^(71,75). As is the case for higher vertebrates, the different types of immune responses elicited by pathogen infection are activated through differential synthesis of cytokines by activated cell subsets. Generally, Th1 cytokines (interleukin 2 (IL-2), interferon gamma (IFN- γ) and tumor necrosis factors alpha (TNF- α) and beta (TNF- β) induce defenses against intracellular pathogens by activating macrophages, enhancing antigen presentation and inducing T cell differentiation⁽²⁾. In contrast, Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10 and IL-13) activate B cells and thus coordinate immunity against extracellular pathogens through antibody production⁽²⁾. Recently, Th1 responses mediated by IFN- γ have been shown functionally in rainbow trout *O. mykiss*⁽⁷⁶⁾ and Th2 responses mediated by IL-4 in pufferfish *Tetraodon*⁽⁷⁷⁾. There is also evidence suggesting that infection by monogeneans of the genus *Gyrodactylus* induces Th1 responses in salmonid fishes^(15,78).

CONCLUSIONS

Innate immunity provides fish with pre-existing, fast-acting defensive mechanisms which are relatively independent of temperature. These defenses are fundamental for poikilothermic organisms, and are effective against various types of pathogens. Teleosts can also mount acquired, immune responses, characterized by their specificity although these are slower than innate responses and are temperature-dependent.

Knowledge of the immune system of teleost fishes, apart from providing basic scientific information on the origin of defensive systems of higher vertebrates, has enabled the development of methods to stimulate defenses of commercially-important fishes, reducing mortality and increasing productivity of fish farms. Vaccination is crucial for intensive aquaculture and has been essential to the success of salmon and trout farming⁽⁵⁸⁾. Apart from the vaccines available to protect salmonids,

de un mes^(70,72). La hipersensibilidad retardada (tipo IV) también es un fenómeno inmunitario mediado por células, y se ha demostrado que ocurre en peces tras exponerlos a antígenos bacterianos⁽⁷¹⁾ y a los protozoarios parásitos *Cryptobia salmositica*⁽⁷³⁾ e *Ichthyophthirius multifiliis*⁽⁷⁴⁾. Considerando que las respuestas mediadas por células están restringidas al reconocimiento de las moléculas del MHC clase I, es probable que jueguen un papel en el reconocimiento de los antígenos virales presentados por las células infectadas⁽⁷⁰⁾. Recientemente, se demostró que mediante la vacunación con ADN viral, se pueden inducir respuestas citotóxicas contra células con marcadores MHC clase I infectadas por virus⁽⁵⁵⁾.

Las interacciones entre las células inmunitarias no sólo están mediadas por contacto célula a célula, sino también a través de la secreción de factores solubles (citocinas). Las células de los peces secretan varias citocinas análogas a las citocinas de los mamíferos^(71,75). Como en el caso de los vertebrados superiores, los diferentes tipos de respuestas inmunitarias desencadenados por una infección son activados a través de la síntesis diferencial de citocinas por parte de subgrupos de células activadas. En general, las citocinas de tipo Th1 (interleucina 2 (IL-2), interferón gamma (IFN- γ) y los factores de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y beta (TNF- β)) inducen defensas en contra de patógenos intracelulares al activar a los macrófagos, aumentando la presentación de antígenos e induciendo la diferenciación de células T⁽²⁾. En contraste, las citocinas de tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) activan a las células B y de esta manera coordinan la inmunidad en contra de patógenos extracelulares mediante la producción de anticuerpos⁽²⁾. Recientemente, se demostraron respuestas funcionales de tipo Th1 mediadas por IFN- γ en trucha arcoíris *O. mykiss*⁽⁷⁶⁾ y de tipo Th2 mediadas por IL-4 en pez globo *Tetraodon*⁽⁷⁷⁾. También hay evidencia que apunta a que la infección por monogéneos del género *Gyrodactylus* induce respuestas tipo Th1 en peces salmónidos^(15,78).

CONCLUSIONES

La inmunidad innata les brinda a los peces óseos mecanismos defensivos pre- existentes que actúan

there are preparations to immunize catfish, seabream, seabass, amberjack/yellowtail, tilapia and cod⁽⁵⁸⁾. In general, available vaccines have been developed empirically based on inactivated bacterial pathogens. Nonetheless, there are only a few commercial vaccines against viruses and there is none that protects against parasites. Increasing the knowledge of bony fish immunology will enable improvements to immune stimulation and vaccination regimes, which would significantly benefit aquaculture, an activity that will presumably become increasingly more relevant. A solid knowledge of fish immunology would also enable a reduction of the environmental impact of fish farms, by decreasing the use of chemicals to prevent and control infections.

End of english version

velozmente y de manera relativamente independiente de la temperatura. Estas defensas son cruciales para los organismos poiquiloterms, y son efectivas contra varios tipos de patógenos. Los teleósteos también pueden desarrollar repuestas inmunitarias adquiridas, caracterizadas por su especificidad, aunque son más lentas y dependientes de la temperatura que las respuestas innatas.

El conocimiento del sistema inmunitario de los teleósteos, aparte de generar información científica básica sobre el origen de los sistemas defensivos de los vertebrados superiores, ha permitido desarrollar métodos para estimular las defensas de los peces de interés económico, reduciendo la mortalidad e incrementando la productividad de las piscifactorías. La vacunación juega un importante papel en las granjas acuícolas intensivas y ha sido clave para el éxito del cultivo de salmón y trucha⁽⁵⁸⁾. Además de las vacunas disponibles para peces salmónidos, existen preparaciones para inmunizar bagre, dorada, lubina, medregal, tilapia y bacalao. En general, las vacunas disponibles se han desarrollado empíricamente a partir de patógenos bacterianos inactivados. Sin embargo, únicamente existen unas cuantas vacunas contra patógenos virales, y no existe ninguna que proteja

contra parásitos. Incrementar el conocimiento de la inmunología de los peces óseos permitiría mejorar los esquemas de estimulación inmunitaria y de vacunación, cosa que facilitaría grandes avances y beneficios en la acuicultura, una actividad que presumiblemente cada vez será más relevante. Un sólido conocimiento de la inmunología de los teleósteos permitiría, además de logros en la productividad acuícola, reducir el impacto ambiental de las piscifactorías, al disminuir el uso de químicos para prevenir y controlar infecciones.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo del CONACYT durante la elaboración del manuscrito (proyecto CB 58050).

LITERATURA CITADA

- Du Pasquier L, Litman GW. Origin and evolution of the vertebrate immune system. Berlin: Springer-Verlag; 2000.
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Schlomchik MJ. Immunobiology; the immune system in health and disease. 6th ed. New York: Garland Science Publishing; 2005.
- Travis J. On the origin of the immune system. *Science* 2009;324:580-582.
- DeVries ME, Kelvin AA, Xu LL, Ran LS, Robinson J, Kelvin DJ. Defining the origins and evolution of the chemokine/chemokine receptor system. *J Immunol.* 2006;176:401-415.
- Pancer Z, Cooper MD. The evolution of adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 2006;24:497-518.
- Rolff J. Why did the acquired immune system of vertebrates evolve? *Dev Comp Immunol* 2007;31:476-482.
- Iwama G, Nakanishi TE. The fish immune system: organism, pathogen and environment. London: Academic Press Ltd.; 1996.
- Manning MJ. Immune defence systems. In: Black KD, Pickering AD editors. *Biology of farmed fish*. Sheffield: Sheffield Academic Press; 1998:180-221.
- Buchmann K, Lindenstrøm T, Bresciani J. Defence mechanisms against parasites in fish and the prospect for vaccines. *Acta Parasitol* 2001;46:71-81.
- Jones SRM. The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Dev Comp Immunol* 2001;25:841-852.
- Nielsen ME, Esteve-Gassent MD. The eel immune system: present knowledge and the need for research. *J Fish Dis* 2006;29:65-78.
- Meeker ND, Trede NS. Immunology and zebrafish: Spawning new models of human disease. *Dev Comp Immunol* 2008;32:745-757.
- Stein C, Caccamo M, Laird G, Leptin M. Conservation and divergence of gene families encoding components of innate immune response systems in zebrafish. *Genome Biol* 2007;8:R251.
- Magnadóttir B. Innate immunity of fish (overview). *Fish Shellfish Immunol* 2006;20:137-151.
- Buchmann K, Lindenstrøm T, Bresciani J. Interactive associations between fish hosts and monogeneans. In: Wiegertjes GF, Flik G editors. *Host-Parasite Interactions*. Oxford: Garland Science/BIOS Scientific Publishers; 2004:161-184.
- Yano T. The nonspecific immune system: humoral defense. In: Iwama G, Nakanishi T editors. *The fish immune system: organism, pathogen and environment*. London: Academic Press Ltd.; 1996:106-159.
- Ellis AE. The immunology of teleosts. In: Roberts RJ editor. *Fish Pathology*. 2nd ed. London: Baillière Tindall; 1989:135-152.
- Woo PTK. Protective immunity in fish against protozoan diseases. *Parassitologia* 2007;49:185-191.
- Buchmann K. Immune mechanisms in fish skin against monogeneans—a model. *Folia Parasitol* 1999;46:1-9.
- Boshra H, Li J, Sunyer JO. Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol* 2006;20:239-262.
- Sakai DK. Repertoire of complement in immunological defense mechanisms of fish. *Annu Rev Fish Dis* 1992;2:223-247.
- Holland MCH, Lambris JD. The complement system in teleosts. *Fish Shellfish Immunol* 2002;12:399-420.
- Rubio-Godoy M, Porter R, Tinsley RC. Evidence of complement-mediated killing of *Discocotyle sagittata* (Platyhelminthes, Monogenea) oncomiracidia. *Fish Shellfish Immunol* 2004;17:95-103.
- Buchmann K. Binding and lethal effect of complement from *Oncorhynchus mykiss* on *Gyrodactylus derjavini* (Platyhelminthes: Monogenea). *Dis Aquat Organ* 1998;32:195-200.
- Harris PD, Soleng A, Bakke TA. Killing of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) mediated by host complement. *Parasitology* 1998;117:137-43.
- Wood BP, Matthews RA. The immune response of the thick-lipped grey mullet, *Chelon labrosus* (Risso, 1826), to metacercarial infections of *Cryptocotyle lingua* (Creplin, 1825). *J Fish Biol* 1987;31A:175-183.
- Ardelli BF, Woo PTK. Protective antibodies and anamnestic response in *Salvelinus fontinalis* to *Cryptobia salmositica* and innate resistance of *Salvelinus namaycush* to the hemoflagellate. *J Parasitol* 1997;83:943-946.
- Buchmann K, Nielsen ME. Chemoattraction of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) to host molecules. *Int J Parasitol* 1999;29:1415-1423.
- Cuesta A, Muñoz P, Rodríguez A, Salinas I, Sitjá-Bobadilla A, Alvarez-Pellitero P, et al. Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate defence against the parasite *Enteromyxum leei* (Myxozoa). *Parasitology* 2006;132:95-104.
- González SF, Buchmann K, Nielsen ME. Complement expression in common carp (*Cyprinus carpio* L.) during infection with *Ichthyophthirius multifiliis*. *Dev Comp Immunol* 2007;31:576-586.
- Lvoll M, Kilvik T, Boshra H, Bogwald J, Sunyer JO, Dalmo RA. Maternal transfer of complement components C3-1, C3-3,

- C3-4, C4, C5, C7, Bf, and Df to offspring in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Immunogenetics 2006;58:168-179.
32. Huttenhuis HBT, Grou CPO, Taverne-Thiele AJ, Taverne N, Rombout J. Carp (*Cyprinus carpio* L.) innate immune factors are present before hatching. Fish Shellfish Immunol 2006;20:586-596.
 33. Nakanishi T, Kodama H, Murai T, Mikani T, Izawa H. Activation of rainbow trout complement by C-reactive protein. Am J Vet Res 1991;52:397-401.
 34. Russell S, Lumsden JS. Function and heterogeneity of fish lectins. Vet Immunol Immunopathol 2005;108:111-120.
 35. Arason GJ. Lectins as defence molecules in vertebrates and invertebrates. Fish Shellfish Immunol 1996;6:277-289.
 36. Secombes CJ. The nonspecific immune system: cellular defenses. In: Iwama G, Nakanishi T editors. The fish immune system: organism, pathogen and environment. London: Academic Press Ltd.; 1996:63-103.
 37. Robertsen B. The interferon system of teleost fish. Fish Shellfish Immunol 2006;20:172-191.
 38. Secombes CJ. Enhancement of fish phagocyte activity. Fish Shellfish Immunol 1994;4:421-436.
 39. Silphaduang U, Colorni A, Noga EJ. Evidence for widespread distribution of piscidin antimicrobial peptides in teleost fish. Dis Aquat Org 2006;72:241-252.
 40. Mulero I, Noga EJ, Meseguer J, García-Ayala A, Mulero V. The antimicrobial peptides piscidins are stored in the granules of professional phagocytic granulocytes of fish and are delivered to the bacteria-containing phagosome upon phagocytosis. Dev Comp Immunol 2008;32:1531-1538.
 41. Tatner MF. Natural changes in the immune system of fish. In: Iwama G, Nakanishi T editors. The fish immune system: organism, pathogen and environment. London: Academic Press Ltd.; 1996:255-287.
 42. Bly JE, Quiniou SM, Clem LW. Environmental effects on fish immune mechanisms. Dev Biol Stand 1997;90:33-43.
 43. Jima DD, Shah RN, Orcutt TM, Joshi D, Law JM, Litman GW, et al. Enhanced transcription of complement and coagulation genes in the absence of adaptive immunity. Mol Immunol 2009;46:1505-1516.
 44. Bautista-Garfias CR, Mosqueda-Gualito JJ. Role of Toll-like receptors in innate immunity and their implication in veterinary medicine. Vet Méx 2005;36:453-468.
 45. Østergaard AE, Martín SAM, Wang T, Stet RJM, Secombes CJ. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess multiple novel immunoglobulin-like transcripts containing either an ITAM or ITIMs. Dev Comp Immunol 2009;33:525-532.
 46. Press CM, Evensen O. The morphology of the immune system in teleost fishes. Fish Shellfish Immunol 1999;9:309-318.
 47. Zapata AG, Chibá A, Varas A. Cells and tissues of the immune system of fish. In: Iwama G, Nakanishi T editors. The fish immune system: organism, pathogen and environment. London: Academic Press, Ltd.; 1996:1-62.
 48. Hanington PC, Tam J, Katzenback BA, Hitchen SJ, Barreda DR, Belosevic M. Development of macrophages of cyprinid fish. Dev Comp Immunol 2009;33:411-429.
 49. Castillo-Briceño P, Sepulcre MP, Chaves-Pozo E, Meseguer J, García-Ayala A, Mulero V. Collagen regulates the activation of professional phagocytes of the teleost fish gilthead seabream. Mol Immunol 2009;46:1409-1415.
 50. Sepulcre MP, López-Castejón G, Meseguer J, Mulero V. The activation of gilthead seabream professional phagocytes by different PAMPs underlines the behavioural diversity of the main innate immune cells of bony fish. Mol Immunol 2007;44:2009-2016.
 51. Ellis AE. Eosinophilic granular cells (EGC) and histamine responses to *Aeromonas salmonicida* toxins in rainbow trout. Dev Comp Immunol 1985;9:251-260.
 52. Vallejo AN, Ellis AE. Ultrastructural study of the response of eosinophilic granule cells to *Aeromonas salmonicida* extracellular products and histamine liberators in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. Dev Comp Immunol 1989;13:133-148.
 53. Reite OB. Mast cells/eosinophilic granule cells of teleostean fish: a review focusing on staining properties and functional responses. Fish Shellfish Immunol 1998;8:489-513.
 54. Silphaduang U, Noga EJ. Peptide antibiotics in mast cells of fish. Nature 2001;414:268-269.
 55. Utke K, Bergmann S, Lorenzen N, Kollner B, Ototake M, Fischer U. Cell-mediated cytotoxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, infected with viral haemorrhagic septicaemia virus. Fish Shellfish Immunol 2007;22:182-196.
 56. Ohta Y, Flajnik M. IgD, like IgM, is a primordial immunoglobulin class perpetuated in most jawed vertebrates. Proc Natl Acad Sci. USA. 2006;103:10723-10728.
 57. Hansen JD, Landis ED, Phillips RB. Discovery of a unique Ig heavy-chain isotype (IgT) in rainbow trout: Implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish. Proc Natl Acad Sci. USA. 2005;102:6919-6924.
 58. Sommerset I, Krossøy B, Biering E, Frost P. Vaccines for fish in aquaculture. Expert Rev Vaccines 2005;4:89-101.
 59. Ellis AE. Fish vaccination. London: Academic Press; 1988.
 60. Bondad-Reantaso MG, Ogawa K, Yoshinaga T, Wakabayashi H. Acquired protection against *Neobenedenia girellae* in Japanese flounder. Fish Pathol 1995;30:233-238.
 61. Kim KH, Hwang YJ, Cho JB, Park SI. Immunization of cultured juvenile rockfish *Sebastes schlegeli* against *Microcotyle sebastis* (Monogenea). Dis Aquat Org 2000;40:29-32.
 62. Rubio-Godoy M, Sigh J, Buchmann K, Tinsley RC. Immunization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* against *Discocotyle sagittata* (Monogenea). Dis Aquat Org 2003;55:23-30.
 63. Xu DH, Klesius PH, Shoemaker CA. Protective immunity of Nile tilapia against *Ichthyophthirius multifiliis* post-immunization with live theronts and sonicated trophonts. Fish Shellfish Immunol 2008;25:124-127.
 64. Magnadottir B, Lange S, Gudmundsdottir S, Bogwald J, Dalmo RA. Ontogeny of humoral immune parameters in fish. Fish Shellfish Immunol 2005;19:429-439.
 65. Nakamura O, Kudo R, Aoki H, Watanabe T. IgM secretion and absorption in the materno-fetal interface of a viviparous teleost, *Neoditrema ransonnetii* (Perciformes; Embiotocidae). Dev Comp Immunol 2006;30:493-502.
 66. Swain P, Dash S, Bal J, Routray P, Sahoo PK, Sahoo SK, et al. Passive transfer of maternal antibodies and their existence in eggs, larvae and fry of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham.). Fish Shellfish Immunol 2006;20:519-527.
 67. Nakanishi T, Ototake M. Antigen uptake and immune responses after immersion vaccination. Dev Biol Stand 1997;90:59-68.
 68. Moore JD, Ototake M, Nakanishi T. Particulate antigen uptake during immersion immunisation of fish: The effectiveness of prolonged exposure and the roles of skin and gill. Fish Shellfish Immunol 1998;8:393-407.

INMUNOLOGÍA DE LOS PECES ÓSEOS. REVISIÓN

69. Lobb CJ, Clem LW. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. XII. Secretory immunoglobulins in the bile of the marine teleost *Archosargus probatocephalus*. *Mol Immunol* 1981;18:615-619.
70. Nakanishi T, Aoyagi K, Xia C, Dijkstra JM, Ototake M. Specific cell-mediated immunity in fish. *Vet Immunol Immunopathol* 1999;72:101-109.
71. Manning MJ, Nakanishi T. The specific immune system: cellular defenses. In: Iwama G, Nakanishi T editors. *The fish immune system: organism, pathogen and environment*. London: Academic Press Ltd.; 1996:159-205.
72. Nakanishi T, Ototake M. The graft-versus-host reaction (GVHR) in the ginbuna crucian carp, *Carassius auratus langsdorfii*. *Dev Comp Immunol* 1999;23:15-26.
73. Thomas PT, Woo PT. *In vivo* and *in vitro* cell-mediated immune responses of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Cryptobia salmositica* Katz, 1951 (Sarcostomatida: Kinetoplastida). *J Fish Dis* 1990;13:423-433.
74. Sin YM, Ling KH, Lam TJ. Cell-mediated immune response of goldfish, *Carassius auratus* (L.), to *Ichthyophthirius multifiliis*. *J Fish Dis* 1996;19:1-7.
75. Bird S, Zou J, Secombes CJ. Advances in fish cytokine biology give clues to the evolution of a complex network. *Curr Pharm Design* 2006;12:3051-3069.
76. Zou J, Carrington A, Collet B, Dijkstra JM, Yoshiura Y, Bols N, *et al*. Identification and bioactivities of IFN-gamma in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: The first Th1-type cytokine characterized functionally in fish. *J Immunol* 2005;175:2484-2494.
77. Li JH, Shao HZ, Xiang LX, Wen Y. Cloning, characterization and expression analysis of pufferfish interleukin-4 cDNA: The first evidence of Th2-type cytokine in fish. *Mol Immunol* 2007;44:2078-2086.
78. Rubio-Godoy M. Fish host-monogenean parasite interactions, with special reference to Polyopisthocotylea. In: Terrazas LI editor. *Advances in the Immunobiology of Parasitic Diseases*. Trivandrum: Research Signpost; 2007:91-109.