

Efecto de los Lípidos Dietéticos en la Salud y Resistencia al Estrés en Peces.

Montero, D. ¹ & Izquierdo, M.S. ²

1. Instituto Canario de Ciencias Marinas, Gobierno de Canarias. P.O. Box 56. 35200. Telde, Las Palmas. Islas Canarias. España.
 2. Departamento de Biología. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Campus Universitario de Tafira. 35017. Las Palmas de Gran Canaria. Islas Canarias. España.
-

Todas las especies de vertebrados tienen requerimientos de ciertos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que son suministrados por los lípidos en la dieta. Si aparece una deficiencia, el animal sufre una reducción en el crecimiento, alteraciones en la reproducción y patologías diversas. Estos ácidos grasos son los denominados ácidos grasos esenciales (AGEs). Este término incluye ácidos grasos de la serie n-6, derivados del ácido linoleico (18:2n-6), y de la serie n-3, derivados del ácido linolénico (18:3n-3).

Los requerimientos de ácidos grasos esenciales de la serie n-3 en peces de agua salada sólo pueden ser cubiertos por el ácido eicosapentaenoico (EPA), 20:5n-3, y el ácido docosahexaenoico (DHA), 22:6n-3. Estos ácidos grasos están incluidos dentro de los conocidos como n-3 HUFA. Los requerimientos de AGEs de la serie n-3 en peces de agua dulce quedan cubiertos con el 18:3n-3, ya que estos peces generalmente pueden convertir el ácido linolénico en EPA y DHA, mientras que los peces de agua salada no tienen esta capacidad, o está muy reducida, siendo insuficiente para cubrir las necesidades fisiológicas de dichos ácidos grasos (Sargent y col., 1995).

Los ácidos grasos son componentes de los fosfoacilglicéridos, componente lipídico mayoritario de las biomembranas. La composición de ácidos grasos de los fosfolípidos depende de la especie y, dentro de una misma especie, del tejido concreto (Sargent y col., 1989). Los n-3 HUFA predominan en el tejido nervioso, órganos reproductores y retina (Gurr y Harwood, 1991).

La fluidez de la membrana y el grado de insaturación de los ácidos grasos están relacionados, de forma que un aumento en la insaturación implica un aumento en la fluidez de la membrana. La fluidez de membrana está directamente implicada en la adaptación homeoviscosa, proceso mediante el cual los animales poiquilotermos se adaptan a los cambios de temperatura.

Los ácidos grasos desempeñan un papel estructural en la membrana de manera que las deficiencias de AGE producen fragilidad de membranas celulares. Por otro lado, determinados procesos se ven afectados por la deficiencia de AGE, como la β -oxidación y la fosforilación oxidativa (Gurr y Harwood, 1991).

Los ácidos grasos de las series n-3 y n-6 son precursores de eicosanoides, que son sus derivados oxigenados y que no se acumulan, sino que deben ser sintetizados *de novo* inmediatamente después de la activación celular. Los eicosanoides juegan un papel relevante en la regulación del sistema inmunológico en mamíferos, mediante su efecto directo en células

del sistema inmune, como son linfocitos y macrófagos, o por su efecto indirecto a través de las citoquinas. En peces está demostrado que los eicosanoides regulan la respuesta inmune de la misma manera que en mamíferos (Secombes y col., 1994; Rowley y col., 1995).

Los requerimientos de AGE para distintas especies han sido revisados por Watanabe (1982). Los requerimientos cuantitativos de n-3 HUFA varían para distintas especies. Así, dorada son de 0.9% de la dieta (Kalogeropoulos y col., 1992), 0.8% de la dieta para rodaballo (*Psetta maxima*) (Gatesoupe y col., 1977), 1% de la dieta para el corégono *Coregonus lavaretus* (Thongrod y col., 1989) o 0.5% para la dorada japonesa (Yone, 1978). Algunas especies tienen requerimientos muy elevados, como el jurel listado (*Pseudocaranx dentex*) que necesita el 1.7% de DHA en la dieta (Takeuchi y col., 1992). La deficiencia de AGE en general reduce el crecimiento, provoca una pobre eficiencia alimenticia y un amplio conjunto de deficiencias anatómicas y funcionales (Watanabe, 1982).

Lípidos dietéticos y resistencia a manipulación.

Un síntoma de deficiencia de ácidos grasos esenciales descrito para trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) por Castell y col. (1972) consiste en un síndrome de shock después de una manipulación. Estos síntomas aparecían de 1 a 3 meses después del inicio de la alimentación, siendo muy acusado en peces alimentados con dietas deficientes en ácido linolénico. De manera similar, Bell y col. (1991a) describieron un shock inducido por transporte en salmón Atlántico (*Salmo salar*) que causaba un 30 % de mortalidad en salmones alimentados con dietas con aceite de girasol, que contenían un 9.9% de ácidos grasos de la serie n-3. Sin embargo, salmones alimentados con dietas con aceite de pescado, con un contenido en ácidos grasos de la serie n-3 de un 23.8% no presentaron mortalidad frente a ese estrés.

Estos dos trabajos aportan evidencias de una relación directa entre el tipo de lípidos en la dieta y las consecuencias derivadas de la acción de un estresante en peces de cultivo. Bell y col (1991a) especularon con la posibilidad de que los ácidos grasos de la dieta influenciaron el estatus de eicosanoides. No obstante, la propia deficiencia dietética en sí podría haber sido la causante de una menor resistencia a esas condiciones estresantes, como se analizará más adelante.

A nivel larvario, hay numerosas evidencias de la acción de los ácidos grasos esenciales en la capacidad de resistencia a condiciones estresantes de diferentes especies de peces. Así, Izquierdo (1996) señala que larvas de varias especies de peces marinos alimentadas con alimento vivo deficiente en n-3 HUFA presentan alta mortalidad 24 horas después del denominado "test de actividad" consistente en la aplicación de un estrés agudo (mantenimiento fuera del agua por algunos segundos, por ejemplo).

Así, Izquierdo y col. (1989) encontraron que la sensibilidad al test de actividad estaba relacionada con la tasa ácido oleico/n-3 HUFA en los fosfolípidos de los peces. Kraul y col. (1993) demostraron que la recuperación de las larvas de mahimahi (*Coryphaena hippurus*) frente a condiciones de estrés agudo dependía de los niveles de DHA en la dieta, a pesar de que hubiera suficiente EPA en dieta. Ako y col. (1994) mostraron que el enriquecimiento de los nauplios de *Artemia* con ácidos grasos mejoraba la resistencia a estrés en las larvas de *Mugil cephalus*. Las larvas alimentadas con nauplios sin enriquecer, con un contenido en EPA de 0.36 mg/100 mg (p.s.) y de DHA no detectable, presentaban una supervivencia del 27% tras el test de actividad. Sin embargo, las larvas alimentadas con nauplios enriquecidos, con un

contenido en EPA y DHA de 1.02 y 0.50 mg/100 mg (p.s.) respectivamente, presentaron una supervivencia del 98% tras el mismo test. El DHA es esencial en la resistencia al test de actividad en larvas, como demostró Kanazawa (1997) para dorada japonesa (*Pagrus major*). Un nivel del 2% de DHA en dieta microparticulada permitió un 73% de supervivencia frente al 22% de supervivencia con un 1% de DHA en dieta o la mortalidad total en el grupo alimentado con dieta sin DHA. Arnaiz et al., han sugerido que la habilidad de las larvas deficientes en AGEs para soportar el incremento en la demanda de oxígeno provocado por el test de actividad está posiblemente deteriorada por el bajo contenido en DHA de las branquias, afectando la permeabilidad de la membrana celular y la capacidad de transporte de oxígeno.

El papel de los lípidos dietéticos en el consumo de oxígeno. Resistencia a condiciones de hipoxia y efectos sobre los parámetros hematológicos.

El papel de los ácidos grasos en el consumo de oxígeno ha sido estudiado por McKenzie y col (1995) para esturión del Adriático (*Acipenser naccarii*). Estos autores demostraron que esturión alimentado con una dieta enriquecida con 15% de aceite de menhaden (FOD) como fuente de n-3 HUFA consume menos oxígeno en condiciones normales que esturión alimentado con una dieta suplementada con un 15% de aceite de coco hidrogenado como fuente de ácidos grasos saturados (COD). Durante condiciones de hipoxia, los esturiones alimentados con la dieta FOD no alteran el metabolismo aeróbico, mientras que los alimentados con la dieta COD disminuyen su consumo de oxígeno. Durante el período de recuperación de la hipoxia, los peces alimentados con la dieta COD consumieron más oxígeno que los peces alimentados con la dieta FOD (Fig. 1).

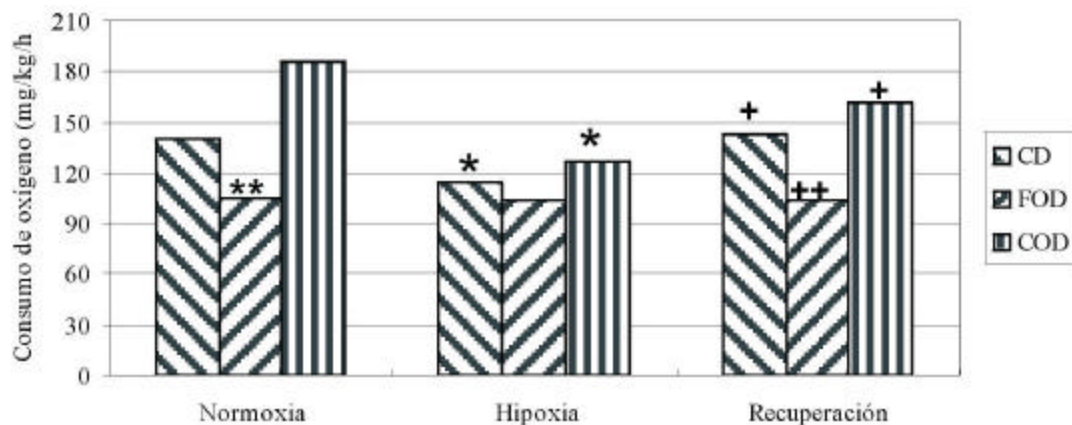


Figura. 1. Consumo de oxígeno en esturión del Adriático alimentado con dietas con distintos tipos de lípidos en condiciones de normoxia, hipoxia y posterior recuperación. CD: Dieta comercial; FOD: dieta con aceite de pescado; COD: Dieta con aceite de girasol. * = Diferencias significativas con el valor en normoxia; ** = Diferencias significativas con los valores de COD; + = Diferencias significativas con el valor de hipoxia; ++ = diferencias significativas con los grupos CD y COD en período de recuperación. (Adaptado de McKenzie y col., 1995)

Kanazawa (1997) demostró que el lenguado jaspeado (*Limanda yokohamae*) alimentado con dieta suplementada con DHA, EPA y lecitina de soya resistía mejor las condiciones de hipoxia. En un estudio posterior, McKenzie y col (1997) demostraron que el efecto de una hipercapnia moderada producía menor disminución de oxígeno en la sangre arterial de esturiones del Adriático alimentados con la dieta FOD comparado con peces alimentados con la dieta COD. La suplementación dietética de n-3 HUFA en mamíferos produce una mejoría en la hipoxianemia asociada a un shock endotóxico, aunque el mecanismo detrás de estos efectos moduladores de los n-3 HUFA es desconocido (Murray y col., 1993).

La capacidad de transporte de oxígeno se puede ver alterada por determinadas condiciones de cultivo como la alta densidad de cultivo, factor asociado a la acuicultura intensiva y que aumenta la demanda energética, afectando a rutas metabólicas relacionadas con el metabolismo lipídico (Vijayan y col., 1990). Como respuesta a esta situación de demanda energética, se produce una hemoconcentración para aumentar la capacidad de transporte de oxígeno (Sivastava y Sahai, 1987; Montero y col, en prensa (b)). Sin embargo, Montero (1996) encontró que esta respuesta hematológica no se producía para dorada alimentada con una dieta deficiente en n-3 HUFA y cultivada en alta densidad (Tabla 1).

Tabla 1. Valores hematológicos para dorada cultivada a distintas densidades y alimentada con dietas con distinto contenido en n-3 HUFA.

	BAJA DENSIDAD		ALTA DENSIDAD	
	Dieta C	Dieta NFA	Dieta C	Dieta NFA
Ht (%)	37.2 ^a	39.5 ^a	43.9 ^b	43.2 ^{ab}
Hb (g/dl)	9.3 ^a	8.7 ^a	10.8 ^b	9.9 ^{ab}
RBC (x10 ⁶ cell/mm ³)	2.8 ^a	2.6 ^a	3.4 ^b	2.9 ^a

Ht= hematocrito; Hb = hemoglobina; RBC = conteo de eritrocitos. Valores con distinta letra en la misma línea son significativamente diferentes (P<0.05).

Los peces alimentados con una dieta que contenía aceite de pescado (Dieta C) presentaban hemoconcentración en alta densidad, a diferencia de los alimentados con una dieta que contenía grasa de vaca (Dieta NFA), donde los parámetros hematológicos no variaban significativamente de las condiciones de baja densidad. Esto podría ser debido a que los peces alimentados con la dieta NFA no incrementan su gasto metabólico en alta densidad, posiblemente debido a alteraciones en el metabolismo lipídico.

Los ácidos grasos dietéticos no influyen los parámetros hematológicos básicos: (hematocrito (Ht), hemoglobina (Hb) o conteo de eritrocitos (RBC)) de en distintas especies de peces, como *Salvelinus alpinus* (Yang y col., 1994), trucha arcoiris (Greene & Selivonchick, 1990), salmón Atlántico (Waagbo y col., 1993), dorada (*Sparus aurata*) (Montero, 1996) y esturión del Adriático (McKenzie y col., 1997). No obstante, algunos trabajos muestran variaciones en algunos de estos parámetros debidas indirectamente a los lípidos dietéticos. Así, bacalao (*Gadus morhua*) alimentado con una dieta con aceite de capelin (rico en monoeno de cadena larga) presentaba valores de hemoglobina superiores a otros peces alimentados con dietas con aceite de soya o con aceite de sardina, debido principalmente al aumento de requerimiento de oxígeno relacionado con una mayor β -oxidación en los peroxisomas (Waagbo y col., 1995). Klinger y col. (1996) encontraron que la suplementación de aceite de menhaden en dieta aumenta el número de trombocitos en el bagre (*Ictalurus punctatus*).

La disponibilidad de ácidos grasos dietéticos y su incorporación en los fosfolípidos de membrana son algunos factores primarios para la estructura de la membrana, su correcto funcionamiento y su fluidez (Brenner, 1984). La composición en ácidos grasos de la membrana de los eritrocitos de peces está relacionada con los niveles dietéticos de ácidos grasos (Leray y col., 1986; Kiron y col., 1994) al igual que ocurre en mamíferos (Moses y Craig, 1983; Popp-Snijders y col., 1986; McMurchie y col., 1990; Giron y col., 1992). El contenido en fosfolípidos de los eritrocitos de salmón Atlántico es de 70-75% del total de los lípidos de los eritrocitos (Thompson y col., 1995), siendo la fosfatidilcolina el principal fosfoacilglicérido encontrado (Lee y col., 1989). Thompson y col. (1995) describieron que los lípidos de los eritrocitos son ricos en PUFAs, principalmente n-3 HUFA.

Hagave y col. (1993) describen un aumento de la resistencia osmótica en eritrocitos de ratas alimentadas con ácidos grasos de la serie n-3. Kiron y col. (1994) describieron una variación de la fragilidad de eritrocitos en trucha arcoiris alimentada con distintos niveles de ácidos grasos en la dieta, observándose que los peces alimentados con ácidos grasos saturados presentaban una membrana muy fácilmente rompible. Boggio y col., (1985) encontraron mayor fragilidad de eritrocitos en trucha arcoiris alimentada con grasa de cerdo que en peces alimentados con aceite de sardina. Ambas dietas tenían igual % de PUFA, pero la relación n6/n3 era distinta, siendo mayor en la dieta con grasa de cerdo. Además, los niveles de ácidos grasos de la serie 22:6 y 20:5 eran menores en esta dieta. Montero (1996) encontró mayor fragilidad de eritrocitos en dorada alimentada con dietas basadas en grasa de vaca, deficientes en n-3 HUFA para esta especie. Erdal y col. (1991) encontraron para salmón Atlántico una correlación positiva entre la fuerza de la membrana celular y el incremento en los niveles de ácidos grasos de la serie n-3 en la dieta. Estos resultados han sido descritos también por Salte y col. (1988) en la misma especie.

En resumen, los lípidos dietéticos influyen en la resistencia de los peces cultivados frente a condiciones estresantes que requieren un aumento metabólico y/o un aumento en la capacidad de transporte de oxígeno. El papel que desempeñan los AGEs en la regulación de determinados procesos metabólicos posibilita la adaptación a condiciones como la hipoxia o la alta densidad de cultivo. Además, el papel de los AGEs como componentes estructurales de las membranas celulares permite el correcto funcionamiento de la membrana de los eritrocitos y, por consiguiente, posibilita los procesos de transporte e intercambio de oxígeno.

Lípidos dietéticos y efectos en el sistema inmune. I. Efectos en células implicadas en la respuesta inmune.

Los lípidos dietéticos afectan de igual manera la estructura y función de otras células en el organismo, influenciando las propiedades físicas y, por consiguiente, los receptores de membrana y las enzimas asociadas. Son numerosos los trabajos que relacionan los niveles dietéticos de AGEs con la función de células implicadas en el sistema inmune. Sheldon y Blazer (1991) encontraron que el aumento de la actividad bactericida de los macrófagos de bagre estaba correlacionada con el incremento de los n-3 HUFA en la dieta. Kiron y col. (1995) describieron semejantes resultados para macrófagos de trucha arcoiris alimentada con cuatro dietas diferentes (Fig 2). Las dietas incluían ácido palmítico (dieta IF1), linoleico (dieta IF2), linolénico (dieta IF3) y n-3 HUFA (dieta IF4), siendo la dieta IF1 deficiente en AGEs. La capacidad bactericida de los macrófagos del pronefros estaba disminuida en el grupo alimentado con la dieta IF1 y era significativamente mayor en el grupo IF4.

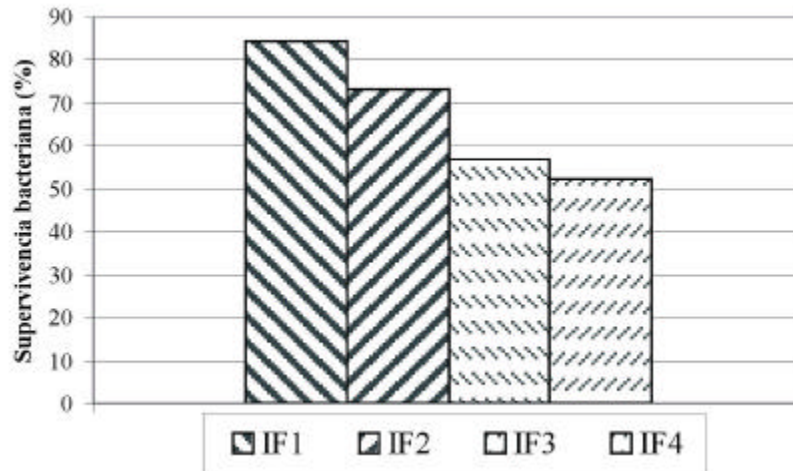


Figura. 2. Actividad antibacteriana in vitro de macrófagos del pronefros de trucha arcoiris alimentada con diferentes ácidos grasos: IF1: ácido palmítico; IF2: ácido linoleico; IF3: ácido linolénico; IF4: n-3 HUFA. (Adaptado de Kiron y col., 1995).

Montero (1996) encontró que el brote respiratorio de los neutrófilos circulantes de dorada, medido por el test de reducción de NBT, estaba disminuido en peces alimentados con una dieta deficiente en n-3 HUFA. Kiron et al. (1993) encontraron igualmente que la capacidad fagocítica de los leucocitos de trucha arcoiris estaba incrementada en peces alimentados con una dieta que contenía ácidos grasos de la serie n-3 comparado con peces alimentados con dietas que contenían ácido palmítico.

Los procesos de fagocitosis son procesos dependientes de la membrana y la fase lipídica de la membrana juega un papel primordial en los mecanismos endocíticos celulares. La inmunomodulación por los lípidos dietéticos está regulada por los cambios en la estructura lipídica de las membranas, influenciando la función de las células implicadas en la respuesta inmune. Ashton y col. (1994) encontraron una disminución de linolénico y EPA en los leucocitos de trucha arcoiris alimentada con una dieta basada en aceite de girasol, que no contenía ácidos grasos de la serie n-3. Así, cambios en la estructura de la membrana celular alterarán los receptores de membrana y, de esta forma, se alterarán procesos asociados a los mismos.

La producción de eicosanoides y la modulación por los lípidos dietéticos.

Una de las funciones más importantes de los macrófagos es la producción de eicosanoides. El ácido araquidónico es el principal precursor de eicosanoides en peces, aunque el EPA también funciona como precursor de ciertos eicosanoides (REF). Los mecanismos utilizados en peces para la síntesis de eicosanoides incluyen la actuación de dos enzimas dioxigenasas, lipooxigenasa y ciclooxigenasa, sobre estos ácidos grasos liberados de la membrana celular tras la acción de la fosfolipasa A₂, producen prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos y lipoxinas.

Los leucocitos de peces sintetizan eicosanoides derivados de ambos ácidos grasos, incluyendo ácido 12-hidroxi-eicosatetraenoico (12-HETE) y ácido 12-hidroxi-eicosapentaenoico (12-HEPE), y leucotrienos y lipoxinas de las series 4 y 5 (Rowley y col., 1987; Pettitt y col., 1991). Estos eicosanoides están implicados en la producción de anticuerpos (Knight y Rowley, 1995), en procesos inflamatorios (Ashton et al., 1994) y en la respuesta de los macrófagos de peces (Sheldon Y Blazer, 1991). El DHA no parece ser capaz de actuar como sustrato para las lipooxigenasas en los leucocitos de trucha arcoiris (Ashton y col., 1994), aunque se ha detectado en salmón Atlántico el 14-hidroxi-dicosahexaenoico (14-HDHE), producto derivado del DHA por la acción de la 12-lipooxigenasa (Bell y col., 1992b).

Las variaciones en la composición dietética de ácidos grasos poliinsaturados modulan la biosíntesis de eicosanoides (Willis, 1981; Mathias Y Dupont, 1985; Bell y col., 1991b; Ashton y col., 1994). Así, por ejemplo, Surette y col. (1995) encontraron que macrófagos de hámster sirio al que se le suplementó la dieta con ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 reducían la producción de eicosanoides derivados del AA por ambas rutas enzimáticas, apareciendo, además, eicosanoides derivados del EPA por la vía lipooxigenasa (12-HEPE) sintetizados por las plaquetas. Bell et al. (1994b) encontraron variaciones en la producción *in vitro* de prostanoïdes por astrocitos de cerebro en rodaballo suplementando distintos ácidos grasos. Estos autores encontraron que disminuían los prostanoïdes derivados del AA, principalmente prostaglandinas PGE₂ y PGF₂ al añadir EPA al cultivo celular. Así mismo, la alimentación de rodaballo con aceites de origen vegetal en vez de aceite de pescado reduce los niveles plasmáticos de otro eicosanoïde, el tromboxano TXB₂, derivado del AA. Estos resultados sugieren que la producción de eicosanoides en diferentes tejidos en los peces puede ser afectada por los lípidos de la dieta, particularmente por la relación n-3/n-6 y más específicamente EPA/AA en el caso de peces marinos. Esta modificación puede ser debida a inhibiciones competitivas entre dichos ácidos grasos como sustratos de varias enzimas: a) de la delta-6 desaturasa en el caso de 18:2n-6 y 18:3n-3, que modificaría la síntesis de AA y EPA en el caso de los peces de agua dulce; b) de las acilasas y transacilasas que esterifican dichos ácidos grasos en fosfatidil-inositol como sustrato previo en la síntesis de eicosanoides c) o directamente de la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa por la síntesis de eicosanoides.

La síntesis de AA y EPA no es probable que se de en peces marinos, debido a la muy baja o casi inexistente actividad de la 6 desaturasa (Mourente Y Tocher, 1993). Ashton y col. (1994) probaron en trucha arcoiris dietas basadas en ácido linoleico, ácido araquidónico o n-3 HUFA. Al comparar la producción de eicosanoides de la vía lipooxigenasa en leucocitos observaron que la proporción relativa de productos derivados de AA y EPA no fue significativamente diferente entre los peces alimentados con las dietas ricas en ácido linoleico o ácido araquidónico, aunque los alimentados con la dieta basada en ácido linoleico tenían menores niveles de Lipoxina A₅. Sin embargo, al comparar los peces alimentados con las dietas ricas en linoleico y n-3 HUFA encontraron importantes diferencias en la producción de eicosanoides. La proporción relativa de productos derivados del AA y EPA fue de 14:1 para los peces alimentados con la dieta basada en ácido linoleico frente a 1:1.5 para los peces alimentados con la dieta rica en n-3 HUFA. Además, no se pudo detectar LTB₅ en los peces alimentados con la dieta rica en linoleico. Estos resultados denotan el papel importante de los ácidos grasos de la serie n-3 en el mantenimiento del equilibrio de eicosanoides.

Fracalossi y col. (1994) encontraron que bagre alimentado con una dieta basada en grasa de vaca y, por consiguiente, deficiente en PUFAs presentaban una producción de LTB menor que peces alimentados con otras dietas con PUFAs. Estos autores sugieren que esta baja producción es debida a la mínima cantidad de linoleico en esa dieta (2.64%) y la ausencia de n-3 como precursores de LTB. El efecto de los ácidos grasos dietéticos sobre la producción de eicosanoides se ha descrito para otras especies, como el salmón Atlántico (Bell y col., 1992a) o el rodaballo (Bell y col., 1994a). Para este último, Bell y col. (1994a) observaron que los niveles dietéticos de AA afectaban a los niveles plasmáticos de TXB₂. La producción *in vitro* de PGE y TXB₂ por células aisladas de branquias también fue menor en los peces alimentados con las dietas deficientes en AA.

Efectos de los lípidos dietéticos en otros parámetros del sistema inmune.

Estudios recientes han demostrado los efectos de los ácidos grasos dietéticos sobre la cantidad y forma de los agregados de macrófagos, acumulaciones focales de macrófagos con pigmentos encontrados en distintos tejidos de peces y que tienen un papel relevante en la respuesta inmune, incluyendo respuesta humoral e inflamatoria, y que actúan como centros de almacenaje, destrucción o detoxificación de sustancias exógenas y endógenas, así como almacenamiento y reciclaje de hierro (Wolke, 1992). Montero y col. (en prensa (1)) demostraron que la deficiencia de n-3 HUFA incrementa el número y porcentaje de tejido ocupado por los agregados de macrófagos del bazo de dorada.

Otros procesos asociados a las células implicadas en la respuesta inmune, como es la activación del complemento o la producción de anticuerpos están influenciados por los lípidos dietéticos. Así, la actividad bactericida del suero, a través de la activación del complemento, está correlacionada negativamente con la cantidad de monoeno de cadena larga en el suero de bacalao, existiendo una correlación positiva entre la actividad del complemento y la cantidad de polienos del suero (Waagbo y col., 1995). Montero y col (1998) encontraron un efecto directo de la deficiencia de n-3 HUFA en la activación de la vía alternativa del suero de dorada. Peces alimentados con una dieta que contenía grasa de vaca como principal fuente de lípidos, con un contenido en n-3 HUFA del 0.42 % (p.s.), presentaban una disminución importante en la actividad hemolítica de la vía alternativa del complemento, comparado con peces alimentados con una dieta que contenía aceite de pescado, con un contenido en n-3 HUFA de 1.5% (p.s.) que cubría los requerimientos para esa especie.

La producción de anticuerpos está también mediada por los lípidos dietéticos. Blazer y col (1989) encontraron variaciones de los anticuerpos circulantes al comparar dietas comerciales y formuladas en laboratorio para bagre. Estos autores asumieron que las variaciones podrían ser debidas a las diferentes tasas n-3/n-6 entre dietas. Sheldon y Blazer (1991) encontraron una mayor producción de anticuerpos en bagre alimentado con una dieta que contenía aceite de menhaden, comparado con peces alimentados con dietas con aceite de soya o grasa de vaca. Fracalossi y Lovell (1994) encontraron una mayor producción de anticuerpos en bagre alimentado con dietas con aceite de menhaden. Pilarczyk (1995) observó mayor nivel de anticuerpos en suero de carpa (*Cyprinus carpio*) alimentada con una dieta suplementada con un 10% de aceite de pescado. Kiron y col. (1995) también encontraron en trucha aroiris una respuesta de producción de anticuerpos mediada por los lípidos de la dieta. Peces alimentados con dietas deficientes en AGEs (una dieta sin lípidos y una dieta con ácido palmítico) presentaron menor producción de anticuerpos que peces alimentados con una dieta rica en ácido linolénico y peces alimentados con una dieta rica en n-3 HUFA.

Resistencia a enfermedades. Efectos de los AGEs.

Hay numerosos trabajos que demuestran que la capacidad de resistencia de los peces a patógenos específicos está modulada por los lípidos de la dieta, si bien los resultados de los distintos estudios son aparentemente contradictorios. Kiron y col (1995) demostraron que la capacidad de resistencia de la trucha arcoiris a una infección con el virus IHN fue menor en peces alimentados con dietas deficientes en AGEs. El mismo efecto fue descrito por Salte y col. (1988) para salmón Atlántico afectado por un brote natural de una vibriosis de aguas frías. Raynard y col (1991) también demostraron que la deficiencia dietética de AGEs provocaba un aumento de la incidencia de enfermedad pancreática en salmón Atlántico. El efecto negativo de la deficiencia de AGEs en la resistencia a patógenos ha sido descrito en mamíferos, incluyendo ratón (DeWille y col., 1979, 1981) y gato (MacDonald y col., 1984).

Sin embargo, otros autores han demostrado con estudios *in vivo* un efecto inmunosupresivo de los ácidos grasos de la serie n-3. Erdal y col. (1991) encontraron este efecto en salmón Atlántico alimentado con dietas con un aumento progresivo de ácidos grasos de la serie n-3 de aceite de menhaden. El estudio se realizó a 10-12°C y los peces alimentados con la dieta enriquecida con ácidos grasos de la serie n-3 tuvieron menor supervivencia frente a una infección con *Yersinia ruckeri*. Un alto contenido de ácidos grasos de la serie n-3 tampoco tuvo un papel protector frente a una infección con *Vibrio salmonicida*. Li y col. (1994) encontraron que el bagre cultivado a 24°C presentaba menor resistencia a *Edwardsiella ictaluri* a medida que los niveles de ácidos grasos de la serie n-3 aumentaban en la dieta. Fracalossi y Lovell (1994) examinaron la supervivencia del bagre alimentado con diferentes lípidos dietéticos frente a *E. ictaluri* a dos diferentes temperaturas (28° y 17°C). Encontraron que los peces alimentados con los mayores niveles de ácidos grasos en la dieta y cultivados a 28°C presentaban menor resistencia a la enfermedad. Sin embargo, en los peces cultivados a 17°C no se observaban diferencias en la resistencia a enfermedades.

Fletcher (1997) en su revisión sobre nutrición y estrés sugiere que el papel inmunomodulador de los lípidos está relacionado con la temperatura y la especie, pudiéndose explicar de esta forma las diferencias encontradas entre distintos experimentos. Esta relación con la temperatura queda de manifiesto en otros procesos como la fagocitosis. Lingenfelter y col. (1995) encontraron un aumento de la fagocitosis en bagre alimentado con una dieta con aceite de menhaden y cultivado a 18°C, comparado con peces alimentados con una dieta con aceite de bagre (rico en monoinsaturados y ligeramente en ácidos grasos de la serie n-6). Sin embargo, a 28°C, este efecto se invierte, presentando mejor capacidad fagocítica los alimentados con la dieta rica en monoinsaturados.

Otra explicación aportada por Kiron y col (1995) es el posible efecto inmunosupresivo que pueden tener los excesos de n-3 HUFA, como demostraron Friend y col. (1980) en cerdos de guinea alimentados con dietas que contenían un 20% de lípidos ricos en ácidos grasos insaturados. Sin embargo, aunque la esencialidad de los lípidos dietéticos en la modulación de la respuesta inmune es indiscutible, la interacción con otros nutrientes, principalmente vitamina E y vitamina C, pueden producir variaciones en el tipo de efecto de los lípidos en dieta.

Los lípidos dietéticos y la resistencia a estrés

Si bien, el efecto inmunomodulador de los lípidos está demostrado, hay muy pocos trabajos sobre el efecto de los lípidos dietéticos en la resistencia a estrés y el papel de los mismos en los mecanismos fisiológicos desencadenados por la acción de un estresante.

Barton y col (1988) mostraron que salmón chinook alimentado con dietas con un alto contenido en lípidos y sometido a manipulación presentaba mayor respuesta de glucosa plasmática después de la incidencia del estrés, si bien no fue posible la interpretación de los resultados obtenidos de niveles de cortisol plasmático después de actuar el estresante.

El cortisol es el principal corticosteroide en teleósteos (Idler y Truscott, 1972) y sus niveles en plasma incrementan como una respuesta primaria al estrés (Schreck, 1981; Barton, 1988; Pickering y Pottinger, 1989). Por lo general, los niveles de cortisol plasmático se elevan después de la acción de un estresante y retornan a los niveles basales en varios días (Pickering y Stewart, 1984). Los niveles de cortisol plasmático se ven afectados por el estado nutricional del pez. Así, el ayuno produce disminución de los niveles de cortisol (Farbridge y Leatherland, 1992), que puede ser una estrategia adaptativa para prevenir una movilización excesiva de las reservas energéticas durante períodos de ayuno (Vijayan y col., 1993).

Montero y col. (1998) describieron un efecto de los niveles de n-3 HUFA en dieta sobre la respuesta de cortisol frente a diferentes condiciones estresantes propias de instalaciones de cría intensiva. Las doradas fueron alimentadas con dos dietas distintas. Una dieta basada en harina de sardina y con aceite de sardina como fuente lipídica (dieta C) y otra con grasa de vaca como principal fuente de lípidos (dieta NFA). La primera cubría los requerimientos de n-3 HUFA para la especie, mientras que la segunda era deficiente en estos ácidos grasos esenciales. Los peces alimentados con la dieta NFA tenían valores basales (sin actuar ningún estresante) de cortisol plasmático tres veces superiores a los que tenían los peces alimentados con la dieta C (13.89 y 3.91 ng/ml plasma respectivamente), aunque no fueron significativamente diferentes. En condiciones de alta densidad de cultivo, uno de los estresantes asociados a la producción intensiva de peces, los valores de cortisol plasmático del grupo C aumentaron hasta 16 ng/ml, mientras que en el grupo alimentado con la dieta NFA en alta densidad, los valores de cortisol plasmático permanecieron también en 16 ng/ml de plasma, no observándose un efecto aditivo de la densidad de cultivo y la deficiencia en n-3 HUFA.

Los peces cultivados sin la presencia de un estresante (a baja densidad de cultivo), fueron sometidos a un estrés agudo repetido en el tiempo (5 minutos de persecución con red durante 14 días consecutivos). La respuesta de cortisol plasmático para los peces alimentados con la dieta NFA siguió un patrón diferente y adquirió mayor intensidad que la observada en los peces alimentados con la dieta C (Fig. 3).

Un efecto semejante ha sido descrito recientemente para ratas (Kamara y col., 1998). Ratas adultas fueron alimentadas durante 10 semanas con dietas que variaban en su composición lipídica: aceite de soya, de menhaden, de maíz o de oliva. Después de 3 días no hubo diferencias en los niveles de corticosterona. Sin embargo, a las 9 semanas de alimentación se realizó un test de estrés y se observó que los grupos alimentados con aceites de menhaden, soya y oliva tenían un nivel significativamente mayor de corticosterona en plasma 1h después de actuar el estresante. Estos autores concluyen que la respuesta fisiológica a estrés está brevemente aumentada durante el inicio en animales alimentados con alto contenido en lípidos poliinsaturados y argumentan que la continuidad de alimentación con estas dietas resulta en una imposibilidad de restituir los niveles basales de corticosterona después de la acción de un estresante. Tannenbaum y col (1997) también encontraron que un exceso de lípidos en dieta produce un aumento de los niveles basales de corticosterona en ratas.

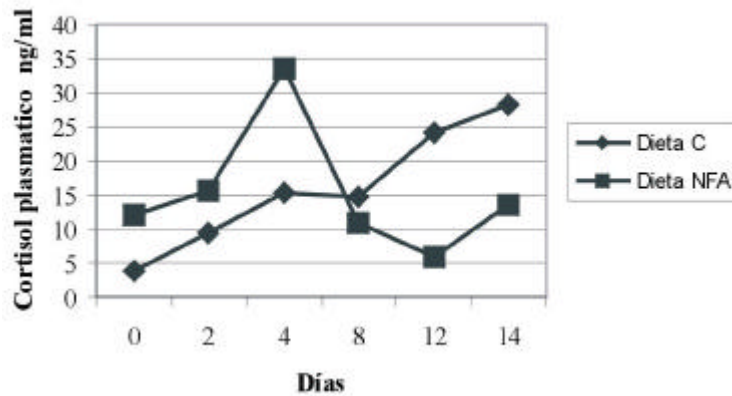


Figura. 3. Evolución del cortisol plasmático de dorada alimentada con distintos niveles de ácidos grasos en la dieta y sometida a estrés agudo repetitivo durante 14 días. Dieta C: dieta control. (1.5% n-3 HUFA) (p.s.). Dieta NFA: dieta deficiente en n-3 HUFA (0.4% n-3 HUFA).

Recientes estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado la diferencia de respuesta del cortisol plasmático en juveniles de dorada alimentados con diferentes lípidos frente a un estresante agudo. Si bien las todas las dietas cubrían los requerimientos de n-3 HUFA, las relaciones n-3/n-6 variaron entre ellas. La respuesta de cortisol durante las tres primeras horas después de actuar un estresante fue diferente para las distintas dietas, produciéndose una respuesta más elevada y permanente para los peces alimentados con una dieta rica en ácido linoléico.

La deficiencia dietética de AGEs actúa como un estresante crónico en peces, produciendo una elevación en los niveles basales de cortisol sin mediar la acción de un estresante. El hecho de que la elevación de la densidad de cultivo no provocara un incremento en los niveles de cortisol plasmático de los peces alimentados con la dieta deficiente puede sugerir que mientras que la alta densidad de cultivo induce la activación del eje hipotálamo-pituitaria-glándula interrenal (HPI), la deficiencia dietética de AGEs no es capaz de activar adicionalmente este eje, puesto que no se incrementan los niveles de cortisol al aumentar la densidad de cultivo. Esto puede ser debido a una disfunción del propio eje, que puede estar motivada por alteraciones en la membrana de las células receptoras del ACTH o liberadoras de cortisol en la glándula suprarrenal. La diferencia de respuesta que se produce en condiciones de estrés agudo puede también apoyar esta idea.

Disfunciones en la membrana celular pueden estar afectando a la ruta de degradación y eliminación del cortisol plasmático. El cortisol de origen endógeno es transformado en el hígado, siendo primeramente reducido a tetrahydrocortisol y después oxidado a tetrahydrocortisona (Dixon y col, 1967), por medio de la enzima UDP-glucuronato transferasa (UDPGT) (Forlin y Haux, 1985), para ser luego eliminado por la bilis (Pottinger y col., 1992). Uno de los efectos directos de la deficiencia de AGEs es alteraciones en las células hepáticas, como puntos de inflamación y/o esteatosis. Estas alteraciones pueden producir disfunciones en la ruta de degradación del cortisol. No obstante, esta posibilidad parece más remota, ya que se observa una respuesta diferente de cortisol plasmático en los peces sometidos a deficiencia nutricional.

Una tercera posibilidad es que la elevación de cortisol plasmático se produzca indirectamente debido a alteraciones y daños producidos como consecuencia directa de la deficiencia de AGEs (por ejemplo, esteatosis en el hígado o alteraciones en otros tejidos) que producirían en el pez un estado de malestar general.

No obstante, también es interesante reseñar que el ya comentado desequilibrio de producción de eicosanoides que se produce cuando algún ácido graso es deficiente en dieta o la relación entre ellos no es la adecuada, podría influir en la producción de corticosteroides. Wales (1988) encontró que los niveles de cortisol plasmático de *Myxine glutinosa* aumentaron tras una inyección de ácido araquidónico y prostaglandina E₂, alcanzando niveles semejantes a los que produce el ACTH en la misma especie.

El papel estructural de los AGEs en la membrana celular y su función en la producción de eicosanoides modulan la respuesta a estrés y las consecuencias sobre el sistema inmune. El papel de los lípidos dietéticos en el mecanismo de respuesta a condiciones estresantes es de naturaleza compleja y aún es necesario un amplio número de estudios para dilucidar los mecanismos de actuación de los AGEs en la respuesta a estrés.

Referencias:

- Ako, H., C.S. Tamaru, P. Bass y C.S. Lee. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 122: 81-90.
- Ashton, I., K. Clements, S.E. Barrow, C.J. Secombes y A.F. Rowley. 1994. Effects of dietary fatty acids on eicosanoid-generating capacity, fatty acid composition and chemotactic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leucocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1214: 253-262.
- Barton, B.A. 1988. Endocrine and metabolic responses of fish to stress. *Int. Assoc. Aquat. Anim. Med. Proc.*, 19: 41-55.
- Barton, B.A., C.B. Schreck y L.G. Fowler. 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile chinook salmon. *Prog. Fish. Cult.*, 50: 16-22.
- Bell, J.G., A.H. McVicar, M.T. Park y J.R. Sargent. 1991a. High dietary linolenic acid affects the fatty acid compositions of individual phospholipids from tissues of Atlantic salmon (*Salmo salar*): Association with stress susceptibility and cardiac lesions. *J. Nutr.*, 121: 1163-1172.
- Bell, J.G., R.S. Raynard y J.R. Sargent. 1991b. The effect of dietary linoleic acid on the fatty acid composition of individual phospholipids and lipoxygenase products from gills and leucocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, 26: 445-450.
- Bell, J.G., J.R. Dick, J.R. Sargent y A.H. McVicar. 1992a. Dietary linolenic acid affects phospholipid fatty acid composition in heart and eicosanoid production by cardiomyocytes from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 103A: 337-342.
- Bell, J.G., J.R. Sargent y R.S. Raynard. 1992b. Effects of increasing dietary linoleic acid on phospholipid fatty acid composition and eicosanoid production in leucocytes and gill cells of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Prost. Leuk. Essent. Fatty Acids*, 45: 197-206.
- Bell, J.G., D.R. Tocher, F.M. McDonald y J.R. Sargent. 1994a. Effects of diet rich in linoleic (18:2n-6) and -linolenic (18:3n-3) acids on the growth, lipid class and fatty acid composition and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiol. Biochem.*, 13 (2): 105-118.
- Bell, J.G., D.R. Tocher y J.R. Sargent. 1994b. Effect of supplementation with 20:3(n-6), 20:4(n-6) and 20:5(n-3) on the production of prostaglandins E and F of the 1-, 2- and 3-series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cells in primary culture. *Biochim. Biophys. Acta*, 1211: 335-342.
- Blazer, V.S., G.T. Ankley y D. Finco-Kent. 1989. Dietary influences on disease factors in channel catfish. *Devel. Comp. Immun.*, 13: 43-48.

- Boggio, S.M., R.W. Hardy, J. K. Babbit y E.L. Brannon.** 1985. The influence of dietary lipid source and alpha-tocopheryl acetate level on product quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 51: 13-24.
- Brenner, R.R.** 1984. Effect of unsaturated acids on membrane structure and enzyme kinetics. *Prog. Lipid. Res.*, 23: 69-96.
- Castell, J.D., R.O Sinhuber, J.H Wales y J.D Lee.** 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Physiological symptoms of EFA deficiency. *J. Nutr.*, 102: 87-92.
- DeWille, J.W., P.J. Fraker, D.R Romsos.** 1979. Effects of essential fatty acid deficiency, and various levels of dietary polyunsaturated fatty acids, on humoral immunity in mice. *J. Nutr.*, 109: 1018-1027.
- DeWille, J.W., P.J. Fraker, D.R Romsos.** 1979. Effects of dietary fatty acids on delayed-type hypersensitivity in mice. *J. Nutr.*, 111: 2039-2043.
- Dixon, P.F., M. Booth y J. Butler.** 1967. The corticosteroids. En: *Hormones in blood*. C.H. Gray y A.L. Bacharach (eds.). 2ª edición. Academic press, New York. Volumen II: 307 -379.
- Erdal, J.I., O. Evensen, O.K. Kaurstad, A. Lillehaug, R. Solbakken & K. Throud.** 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.
- Farbridge, K.L. y J.F. Leatherland.** 1992. Temporal changes in plasma thyroid hormone, growth hormone and free fatty acid concentrations, and hepatic 5' -monodeiodinase activity, lipid and protein content during chronic fasting and refeeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol. Biochem.*, 10: 245-257.
- Fletcher, T.** 1997. Dietary effects on stress and health. En: *Fish stress and health in aquaculture*. (G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schreck, eds.). Cambridge University Press, Cambridge: 223-246.
- Fracalossi, D.M. y R.T. Lovell.** 1994. Dietary lipid sources influence responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to challenge with the pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 119: 287-298.
- Fracalossi, D.M., M.C. Craig-Schmidt y R.T. Lovell.** 1994. Effect of dietary lipid sources on production of leukotriene B by head kidney of channel catfish held at different water temperatures. *J. Aquat. Anim. Health*, 6: 242-250.
- Friend, J.V., S.O. Lock, M.I. Gurr y W.E. Parish.** 1980. Effect of different dietary lipids on the immune responses of Hartley strain guinea pigs. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 62: 292-301.
- Forlin, L. y C.Haux.** 1985. Increased excretion in the bile of 17b-(³H) estradiol-derived radiocativity in rainbow trout treated with b-naphthoflavone. *Aqu. Toxicol.*, 6: 197-208.
- Gatesoupe, F.J., C. Leger, R. Metailler, P. Luquet.** 1977. Alimentation lipidique du turbot (*Scophthalmus maximus* L.) I. Influence de la longueur de chair de acides gras de la serie ω3. *Annal. Hydrobiol.*, 8: 89-97.
- Giron, M.D., F.J. Mataix y M.D. Suarez.** 1992. Long-term effects of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the lipid composition of erythrocyte membrane in dogs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 102A(1): 197-201.
- Greene, D.H.S. y D.P. Selivonchick.** 1990. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 89: 165-182.
- Gurr, M.I. y J.L. Harwood.** 1991. *Lipid Biochemistry. An introduction*. 4ª edición. Chapman & Hall. Londres.
- Hagave, T.A, Y. Johansen y B. Christophersen.** 1991. The effect of n-3 fatty acids on osmotic fragility of rat erythrocytes. *Bioch. Biophys. Acta*, 1084: 251-254.
- Idler, D.R. y B. Truscott.** 1972. Corticosteroids in fish. En: *Steroids in non-mammalian vertebrates*. D.R. Idler (ed). London Academic press: 127-252.
- Izquierdo, M.S.** 1996. Essential fatty acid requirements of marine fish larvae. *Aquacult. Nutr.*, 2: 183-191.
- Izquierdo, M.S., T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa, y C. Kitajima.** 1989. Optimal levels in Artemia to meet the EFA requirements of red seabream (*Pagrus major*). En: *The current status of fish nutrition in aquaculture* (Takeda, M. & T., Watanabe, eds.). Japan Translation Center, Ltd. Tokyo, Japan.: 221-232.
- Kalogeropoulos, N., M.N. Alexis y R.J. Henderson.** 1992. Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 104: 293-308.
- Kamara, K., R. Eskay y T. Castonguay.** 1998. High-fat diets and stress responsivity. *Physiol. Behav.*, 64: 1-6.

- Kanazawa, A.** 1997. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture*, 155: 129-134.
- Klinger, R.C., V.S. Blazer y C. Echevarria.** 1996. Effects of dietary lipid on the hematology of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 147: 225-233.
- Kiron, V., A. Gunji, N. Okamoto, S. Satoh, Y. Ikeda y T. Watanabe.** 1993. Dietary nutrients dependent variations on natural-killer-activity of the leucocytes of rainbow trout. *Gyoby Kenkyu*, 28: 71-76.
- Kiron, V., T. Takeuchi y T. Watanabe.** 1994. The osmotic fragility of erythrocytes in rainbow trout under different dietary fatty acid status. *Fisheries Science*, 60(1): 93-95.
- Kiron, V., H. Fukuda, T. Takeuchi y T. Watanabe.** 1995. Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111A (3): 361-367.
- Knight, J. y A.F. Rowley.** 1995. Immunoregulatory activities of eicosanoids in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Immunol.*, 85: 1605-1610.
- Kraul, S., K. Brittain, R. Cantrell, T. Nagao, H. Ako, T. Ogasawara, y H. Kitagawa.** 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *J. World Aquac. Soc.*, 24: 186-193.
- Lee, K.K., R.S. Raynard y A.E. Ellis.** 1989. The phospholipid composition of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., erythrocyte membranes. *J. Fish Biol.*, 35: 313-314.
- Leray, C., G. Nonnote y L. Nonnote.** 1986. The effect of dietary lipids on the trout erythrocyte membrane. *Fish Physiol. Biochem.*, 1(1): 27-35.
- Li, M.H., D.J. Wise, M.R. Johnson y E.H. Robinson.** 1994. Dietary menhaden oil reduced resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri*. *Aquaculture*, 128: 335-344.
- Lingenfelter, J.T., V.S. Blazer y J. Gay.** 1995. Influence of fish oil in production catfish feeds on selected disease resistance factors. *J. Appl. Aquacult.*, 5: 37-48.
- Mathias, A.L. y J. Dupont.** 1985. Quantitative relationships between dietary linolenate and prostaglandin (eicosanoid) biosynthesis. *Lipids*, 20: 791-801.
- MacDonald, B.C. Anderson, Q.R. Rogers, C.A. Buffington y J.G. Morris.** 1984. Essential fatty acid requirements of cats: pathology of essential fatty acid deficiency. *Am J. Vet. Res.*, 45: 1310-1317.
- McKenzie, D.J. G. Piraccini, J.F. Steffensen, C.L. Bolis, P. Bronzi y E.W. Taylor.** 1995. Effects of diet on spontaneous locomotor activity and oxygen consumption in adriatic sturgeon (*Acipenser naccarii*). *Fish Physiol. Biochem.*, 14(5): 341-35.
- McKenzie, D.J. G. Piraccini, N. Papini, C. Galli, P. Bronzi, C.L. Bolis, y E.W. Taylor.** 1997. Oxygen consumption and ventilatory reflex responses are influenced by dietary lipids in sturgeon. *Fish Physiol. Biochem.*, 16: 365-379.
- McMurchie, E.J., J.A. Rinaldi, S.L. Burnard, G.S. Patern, M. Neumann, C.H. McIntosh, M. Abbey y R.A. Gibson.** 1990. Incorporation and effects of dietary eicosapentaenoate (20:5n-3) on plasma and erythrocyte lipids of the marmoset following dietary supplementation with different levels of linoleic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, 1045: 164-173.
- Montero, D.** 1996. Efecto de las deficiencias nutricionales de alfa-tocoferol y n3 HUFA sobre la resistencia a condiciones estresantes de cultivo en juveniles de dorada. Tesis doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 262 pp.
- Montero, D. L. Tort, M.S. Izquierdo, L. Robaina y J.M. Vergara.** (1998). Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiol. Biochem.*, 18: 399-407.
- Montero, D., V.S. Blazer, J. Socorro, M.S. Izquierdo y L. Tort.** (en prensa(a)). Dietary and culture influences on macrophage aggregate parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, en prensa.
- Montero, D., M.S. Izquierdo, L. Tort, L. Robaina y J.M. Vergara.** (en prensa(b)). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.*, en prensa.
- Moses, M.S. y W.J. Graig.** 1983. Effects of dietary fat on the fatty acid composition of rat erythrocyte phospholipids. *Nutr. Rep. Int.*, 28: 983-990.
- Mourente, G. y D. Tocher.** 1993. Incorporation and metabolism of ¹⁴C-labelled polyunsaturated fatty acids in juvenile sea bream *Sparus aurata* L. in vivo. *Fish Physiol. Biochem.*, 10(6): 443-453.
- Murray, M.J., B.A. Svingen, T.L. Yaksh y R.T. Holman.** 1993. Effects of endotoxin on pigs prefed w3 vs. W6 fatty acid-enriched diets. *Am. J. Physiol.*, 265: E920-E927.

- Pettitt, T.R., S.E. Barrow y A.F. Rowley. 1991. Thromboxane, prostaglandin and leukotriene generation by rainbow trout blood. *Fish Shellfish Immunol.*, 1: 71-74.
- Pickering, A.D. y A. Stewart. 1984. Acclimation of the interrenal tissue of the brown trout, *Salmo trutta* L., to chronic crowding stress. *J. Fish Biol.*, 24: 731-740.
- Pickering, A.D. y T.G. Pottinger. 1989. Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 253-258.
- Pilarczyk, C. 1995. Changes in specific carp immune reaction caused by addition of fish oil to pellets. *Aquaculture*, 129: 425-429.
- Popp-Snijders, C., J.A. Schouten, W.J. van Blitterswijk y E.A. van der Veen. 1986. Changes in the membrane lipid composition of human erythrocyte after dietary supplementation of (n-3) polyunsaturated fatty acids. Maintenance of membrane fluidity. *Biochim. Biophys. Acta*, 854: 31-37.
- Pottinger, T.G., T.A. Moran y P.A. Cranwell. 1992. The biliary accumulation of corticosteroids in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during acute and chronic stress. *Fish Physiol. Biochem.*, 10: 55-66.
- Raynard, R.S., A.H. McVicar, J.G. Bell, A. Youngson, D. Knox y C.O. Fraser. 1991. Nutritional aspects of pancreas disease of Atlantic salmon: the effects of dietary vitamin E and polyunsaturated fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98A (1): 125-131.
- Rowley, A.F., S.E. Barrow y T.C. Hunt. 1987. Preliminary studies on eicosanoid production by fish leucocytes, using GC-mass spectrometry. *J. Fish Biol.*, 31 (supplement A): 107-111.
- Rowley, A.F., J. Knight, P. Lloyd-Evans, J.W. Holland y P.J. Vickers. 1995. Eicosanoids and their role in immune modulation in fish. A brief overview. *Fish & Shellfish Immun.*, 5: 549-567.
- Salte, R., M.S. Thommansen y K. Wold. 1988. Do high levels of dietary polyunsaturated acids (EPA/DHA) prevent diseases associated with membrane degeneration in farmed Atlantic salmon at low water temperatures?. *Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol.*, 8(3): 63-65.
- Sargent, J.R., R.J. Henderson y D.R. Tocher. 1989. The lipids. En: *Fish nutrition*. J.E. Halver (Ed.). Academic press, San Diego: 153-218.
- Sargent, J.R., J.G. Bell, M.V. Bell, R.J. Henderson y D.R. Tocher. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *J. Appl. Ichthyol.*, 11: 183-198.
- Schreck, C.B. 1981. Stress and compensation in teleostean fishes: Response to social and physical factors. En: *Stress and fish*. Pickering, A.D. (Ed.). Academic press. Londres: 295-321.
- Secombes, C.J., K. Clements, I. Ashton y A.F. Rowley. 1994. The effect of eicosanoids on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, leucocyte proliferation. *Vet. Immunol. Immunop.*, 42: 367-378.
- Sheldon, W.H. y V.S. Blazer. 1991. Influence of dietary lipid and temperature on bactericidal activity of channel catfish macrophages. *J. Aqua. Animal Health*, 3: 87-93.
- Srivastava, S. y I. Sahai. 1987. Effects of loading density on carbohydrate metabolism and hematology in the indian freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Aquaculture*, 66: 275-286.
- Surette, M.E., J. Whelan, G. Lu, I. Hardard'ottir y J.E. Kinsella. 1995. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids modify syrian hamster platelet and macrophage phospholipid fatty acyl composition and eicosanoid synthesis: a controlled study. *Biochim. Biophys. Acta*, 1255: 185-191.
- Takeuchi, T. Arakawa, S. Satoh y T. Watanabe. 1992. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids of juvenile striped jack. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 707-713.
- Tannenbaum, B.M., D.N. Brindley, G.S. Tannenbaum, M.F. Dallman, M.D. McArthur, y M.J. Meaney. 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *Am. J. Physiol.* 273: E1168-E1177.
- Thompson, K.D., R.J. Henderson y M.F. Tatner. 1995. A comparison of the lipid composition of peripheral blood cells and head kidney leucocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, 112B(1): 83-92.
- Thongrod, S., T. Takeuchi, S. Satoh y T. Watanabe. 1989. Requirement of fingerling whitefish (*Coregonus laveratus*) for dietary n-3 fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 1983-1987.
- Vijayan, M.M., J.S. Ballantyne y J.F. Leatherland. 1990. High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture*, 88: 371-381.
- Vijayan, M.M., G.D. Foster y T.W. Moon. 1993. Effects of cortisol on hepatic carbohydrate metabolism and responsiveness to hormones in the sea raven, *Hemitripterus americanus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 12(4): 327-335.

- Waagbo, R., K. Sandnes, O. Lie y E.R. Nilsen.** 1993. Health aspects of dietary lipid sources and vitamin E in Atlantic salmon (*Salmo salar*). I. Erythrocyte total lipid fatty acid composition, haematology and humoral immune response. *Fiskeridirektorates Skrifter, Serie Ern ring*, 6: 47-62.
- Waagbo, R., G.I. Hemre, J. CHR. Holm y O. Lie.** 1995. Tissue fatty acid composition, haematology and immunity in adult cod, *Gadus morhua* L., fed three dietary lipid sources. *J. Fish Dis.*, 18: 615-622.
- Wales, N.A.M.** 1988. Hormone studies in *Myxine glutinosa*: effects of the eicosanoids arachidonic acid, prostaglandin E₁, E₂, A₂, F₂, thromboxane B₂ and of indomethacin on plasma cortisol, blood pressure, urine flow and electrolyte balance. *J. Comp. Physiol.*, 158 (B): 621-626.
- Watanabe, T.** 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B: 3-15.
- Willis, A.L.** 1981. Nutritional and pharmacological factors in eicosanoid biology. *Nutr. Rev.*, 39: 289-301.
- Wolke, R.E.** 1992. Piscine macrophage aggregates: a review. *Ann. Rev. of Fish Dis.*: 91-108.
- Yang, X., J.L. Tabachek y T.A. Dick.** 1994. Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on lipid and fatty acid composition and haematology of juvenile arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.). *Fish Physiol. Biochem.*, 12(5): 409-420.
- Yone, Y.** 1978. Essential fatty acid requirement of marine fish. En: *Dietary lipids in aquaculture*. Jap. Soc. Sci. Fish. (eds). Koseisha-Koseikaku. Tokio: 43-59