

Artículo de revisión

Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos

Carolina FLORES QUINTANA

Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE). Universidad Nacional del Nordeste.
carolina@vet.unne.edu.ar

RESUMEN

Los efectos del estrés y los mecanismos fisiológicos implicados son más conocidos en los mamíferos que en peces. Aunque básicamente mecanismos similares fueron observados en ambos grupos, existen diferencias basadas principalmente en el número de órganos implicados, en el tiempo de las respuestas y en los efectos de la temperatura sobre los sistemas biológicos de los teleósteos. La activación de los ejes hormonales y la relación entre sistemas fueron demostradas en diferentes tipos de estrés. Actualmente se propone el concepto de bi-direccionalidad, término que representa mejor la relación entre los sistemas nervioso, endócrino e inmune. Así neuropéptidos, hormonas, citoquinas y otras sustancias actúan como mediadoras de la respuesta a distintos estímulos en estos vertebrados, muchas veces denominados “inferiores” y sugieren que dicha respuesta es ancestral, y que los mecanismos por los cuales es mediada, fueron conservados durante la evolución. Los conocimientos obtenidos hasta el presente permiten la comprensión de la fisiología de los sistemas biológicos, abriendo nuevas áreas de trabajos, principalmente destinados a disminuir las situaciones negativas de la práctica diaria.

PALABRAS CLAVE: peces – cortisol – estrés – catecolaminas – hormonas

ABSTRACT

The effects of stress are more known in mammals than in fish. Although similar mechanisms were observed in both groups, with some differences based mainly on the number of organs implied, the time of the temperature's response and effects onto teleost's biological systems. The hormonal axis activation and relationship between systems were demonstrated in different types of stress. Nowadays, one sets out the concept of bidirectional, term that represents better relation between the nervous, endocrine and immune systems. Thus neuropeptides, hormones,

cytokines and other substances acts like mediators of the response to different stimulus in these vertebrates, often denominated minor and suggest an ancient response and mediated by these mechanisms, its were conserve during the evolution. These knowledge were obtained until the present allow understanding the physiology of the biological systems, opening new areas of works, mainly destined to diminish the negative situations of the daily practice.

KEY WORDS: fish – cortisol – stress – catecholamines – hormones

A nivel mundial, la producción intensiva de peces está ligada a altas densidades de cultivo, alteraciones en la calidad del agua, manejo frecuente y mayor riesgo de aparición de patologías. La magnitud de los efectos del estrés motivó extensas investigaciones de los procesos fisiopatológicos envueltos.

Dos décadas atrás, los sistemas inmune, nervioso y endócrino eran analizados en forma independiente. Así, estudiosos de los sistemas inmune, nervioso y endócrino realizaban experiencias aisladas, cada uno en su área. Actualmente, los resultados de varios trabajos demuestran la relación que existe entre esos sistemas, como por ejemplo la presencia de receptores para hormonas en células del sistema inmune y la existencia de receptores para citoquinas en células del sistema. Sobre esta relación está basado el concepto de bidireccionalidad. Posiblemente, de los tres sistemas, inmune, nervioso y endócrino, este último sea el que más atención recibió en las investigaciones sobre estrés, en forma casi proporcional a la intensificación de la producción animal.

Según Pickering (1981) pocos conceptos suscitaron tantas controversias como el de estrés, y como resultado, existen numerosas definiciones en los trabajos científicos. Se asume que existe un estímulo que actúa sobre los sistemas biológicos, lo que provoca una respuesta. Más que una alteración mórbida, la respuesta al estrés debe ser considerada un componente normal del metabolismo destinado a re-direccionar aspectos metabólicos y elementos celulares para hacer frente a una situación desfavorable.

Los efectos del estrés y los mecanismos fisiológicos implicados son más conocidos en los mamíferos que en peces. Aunque básicamente mecanismos similares fueron observados en ambos grupos, existen diferencias basadas principalmente en el número de órganos implicados, en el tiempo de las respuestas y en los efectos de la temperatura sobre los sistemas biológicos de los teleósteos (Pickford *et al.*, 1971, Fries, 1986, Barton *et al.*, 1987, Ainsworth *et al.*, 1991). Así neuropéptidos, hormonas, citoquinas y otras sustancias actúan como mediadoras de la respuesta a distintos estímulos en estos vertebrados, muchas veces denominados “inferiores” y sugieren que dicha respuesta es ancestral, y que los mecanismos

por los cuales es mediada, fueron conservados durante la evolución (Ottaviani & Franceschi, 1998).

Diferentes estímulos pueden generar respuestas en distintos niveles del organismo, destinadas a mantener la homeostasis. En el proceso operan tres fases definidas por Selye (1950) como Síndrome General de Adaptación (G.A.S.): 1- fase de reconocimiento o alerta, 2- fase de respuesta propiamente dicha y 3- fase de consecuencias. Alteraciones ambientales pueden iniciar un estado de alarma, que es percibido por el sistema nervioso central y el organismo intenta adaptarse para compensar las condiciones alteradas. Las modificaciones prolongadas o muy intensas imposibilitan la compensación y el organismo exhausto termina desarrollando una condición patológica. El G.A.S. es polimórfico y puede ser modificado por distintas condiciones externas como la temperatura, que altera las respuestas del cortisol, de la prolactina o de la hormona tiroidea.

Si bien la intensidad del estrés no puede ser medida, son las respuestas al estímulo las que se determinan cuantitativamente. En peces, numerosos trabajos reportan mediciones de las respuestas primarias, secundarias o los cambios en la performance individual como indicadores de estrés que, cuando van más allá de la tolerancia, ocasionan la muerte o en casos menos severos, afectan el crecimiento (McCormick *et al.*, 1998), predisponen a enfermedades (Robertson *et al.*, 1987, Kaatari & Tripp, 1987) o imposibilitan la resistencia a nuevas situaciones de estrés (Schreck, 2000). Sin embargo, los efectos del estrés a nivel poblacional, aunque difíciles de comprobar, son los que tienen mayores relevancias ecológicas. Estos se manifiestan por la reducción en los procesos de desove (Billard *et al.*, 1981, Hontela, 1997), pobre calidad de la progenie y disminución de la población (Schreck *et al.*, 2001).

Múltiples factores influyen en la respuesta y aunque el grado de la misma puede ser interpretado como indicador de la magnitud del estrés, las respuestas en sus diferentes niveles dependen mucho de la capacidad de cada individuo o de una especie en particular (Pankhurst & Van Der Kraak, 2000). Barton *et al.* (1987) observaron modificaciones en la respuesta en relación a la edad y el grado de desarrollo de los peces.

Las modificaciones neurohormonales y los cambios que acontecen en la periferia como resultado de esa estimulación son denominados efectos primarios y secundarios, respectivamente. Efectos primarios son aquellos que resultan de la activación de los ejes hormonales, de los cuales el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal junto con el eje simpático-

cromafin, fueron los más estudiados (Fabri *et al.*, 1998, Reid & Perry, 1994, Reid *et al.*, 1998). Sin embargo, los ejes somatotrófico (McCormick *et al.*, 1998), tirotrófico (Leatherland & Cho, 1985), prolactínico (Auperin *et al.*, 1997) y gonadotrófico (Teitsma *et al.*, 1998) también son modificados.

Las respuestas primarias afectan los parámetros bioquímicos, estudiados en los dosajes de hormonas en el plasma (Mazeaud *et al.*, 1977, McCormick *et al.*, 1998), e histopatológicos, que se evalúan a través de la actividad secretoria de las células corticotrofas de la hipófisis (Hontela *et al.*, 1992), o de las células interrenales, por el diámetro del núcleo, tamaño celular o contenido de ácido ribonucleico (Yang & Albright, 1995).

Las respuestas secundarias están referidas a cambios metabólicos, que pueden ser bioquímicos (Wells *et al.*, 1984, Pottinger, 1998), fisiológicos (Hemre & Krogdahl, 1996) o hematológicos (Pickford *et al.*, 1971, Soivo & Oikari, 1976), siendo difícil afirmar que una etapa inicia cuando la anterior está finalizando, ya que probablemente muchos acontecimientos ocurren en forma simultánea, y permanecen alterados aún cuando el responsable de la modificación esté en niveles normales.

El concepto de respuesta uniforme, no específica, de todo o nada, es cuestionado, porque no considera la gran capacidad del sistema nervioso central (SNC) de diferenciar estímulos. Diferentes tipos de estrés pueden generar respuestas variadas, muchas veces, difíciles de ser comparadas. Frente a un estímulo, el SNC tiene capacidad de recibir al mismo, clasificarlo y organizar una respuesta. Experiencias anteriores, condiciones ambientales, estado nutricional o etapa de desarrollo, son algunos de los factores que influyen en la respuesta. Además la autonomía de los sistemas del organismo es solo aparente ya que el SNC, el endócrino y el inmune, sumados al comportamiento, ejercen influencias mutuas.

EJE HIPOTÁLAMO-PITUITARIA-ADRENAL (HPA)

La activación del eje HPA fue posiblemente el primero en ser reconocido en los estudios endocrinológicos del estrés y es hasta hoy el más estudiado (Bateman *et al.*, 1989, Barton & Iwama, 1991, Ruane *et al.*, 1999).

El hipotálamo es el órgano que más informaciones recibe, provenientes del exterior e interior, de diferentes tipos e intensidades. Además de las estructuras neurales características, tiene neuronas especializadas en secretar hormonas peptídicas liberadoras o inhibitoras de varias hormonas de la hipófisis. Vías aferentes llegan con la información que es rápidamente decodificada y re-dirigida por vías eferentes, obteniéndose modificaciones en el trabajo cardíaco, flujo sanguíneo, apetito, desarrollo sexual, etc.

Entre las hormonas producidas por el hipotálamo, el efecto de la hormona liberadora de corticotrofina (CRH o CRF), fue el primero en ser demostrado según Vamvakopoulos & Chrousos (1994). Los estudios sobre CRF en peces son más complicados en el momento de la determinación, porque a diferencia de otros vertebrados, la CRF alcanza la hipófisis por contacto neural directo (Harvey, 1993). La hormona CRF controla la síntesis de adrenocorticotrofina (ACTH) que estimula la síntesis y liberación de glucocorticoides desde la glándula interrenal, promoviendo la entrada de colesterol y la activación enzimática correspondiente.

Muchos trabajos destacan la importancia de la activación del eje HPA en situaciones de estrés, pero diferentes tipos de estrés varían en cuanto al eje activado, como es observado en experimentos con modelos hemorrágicos donde se registra liberación de CRF, oxitocina, vasopresina y catecolaminas, en cuanto que en los modelos hipóxicos e hipercápnicos, es activado el eje simpático-cromafin (Reid & Perry, 1994, Wendelaar Bonga, 1997, Reid *et al.*, 1998, Matteri *et al.*, 2000)

Además de estimular la liberación de ACTH, el aumento de CRF provoca la liberación de otras hormonas como endorfinas y péptidos derivados de la pro-opiomelanocortina (POMC) (Matteri & Becker, 1994, Wendelaar Bonga, 1997). Tanto ACTH como endorfinas y melanotrofinas derivan de un precursor común, la POMC, y son sintetizados por dos tipos celulares: células corticotrofas, de la parte anterior de la hipófisis que secreta como principal producto biológicamente activo la ACTH; en tanto que las hormonas estimulantes de los melanocitos (MSH) y β endorfinas, son los principales productos secretados por células melanotrofas, localizadas en la parte intermedia de la glándula. La presencia de estos tipos celulares posibilitaría que diferentes tipos de estrés actúen sobre una u otra célula, secretándose hormonas específicas para cada caso, originando respuestas diferentes (Balm *et al.*, 1995, Ruane *et al.*, 1999).

Difícilmente los sistemas en un organismo se encuentren bajo el control de sólo una hormona, y la ACTH constituye un ejemplo de interrelación de reguladores, pues además de la CRF su secreción está regulada por vasopresina, adrenalina y oxitocina (Matteri *et al.*, 2000, Vamvakopoulos & Chrousos, 1994, Wendelaar Bonga, 1997) faltando aún determinar cual es el significado biológico de la presencia de varios activadores.

La ACTH es secretada rápidamente en respuesta al estrés, apareciendo en pocos minutos los niveles más altos en la sangre, siendo probable que las mayores concentraciones de cortisol se encuentren relacionadas con los mayores niveles de ACTH (Sumpter *et al.*, 1986, Ruane *et al.*, 1999). La alta sensibilidad de esta hormona hipofisiaria a la manipulación del animal, dificulta la determinación de concentraciones basales, lo que explica parcialmente los pocos

trabajos realizados. Niveles de 20 pg/ml que fueron reportados como basales, podrían ser todavía menores.

Cortisol

El cortisol es el principal corticosteroide de los teleósteos y sus concentraciones se elevan marcadamente en situaciones de estrés (Barton & Iwama, 1991).

Aparte de la ACTH, otras hormonas participan en la secreción del cortisol, como el péptido terminal N, angiotensina, urotensinas I y II, péptido natriurético atrial, entre otros (Mommsen *et al.*, 1999).

El cortisol es sintetizado en células interrenales, situadas en la porción cefálica del riñón. El riñón de los peces es un órgano mixto, compuesto por elementos hematopoyéticos, reticuloendoteliales, endócrinos y excretorios, que participan en la osmoregulación, hematopoyesis, inmunidad, metabolismo endócrino y excreción (Matty, 1985). En esta aparente simplicidad anatómica se localizan las glándulas interrenales, células cromafines, folículos tiroideos, y una amplia red vascular y nerviosa. Esta disposición no es casual, demostrando la importante relación entre sistema inmune, endócrino y nervioso, que se presenta aún en las especies filogenéticamente más antiguas.

Cinética del cortisol

Los cambios en los niveles plasmáticos del cortisol, son mundialmente empleados como índices de activación de la respuesta neuroendócrina al estrés (Schreck, 1981, Donaldson, 1981, Pottinger & Carrick, 1999). Los valores pueden elevarse a más de 100 ng/ ml⁻¹ en el estrés agudo, para retornar a valores próximos a los normales de 10- 20 ng/ ml⁻¹ después de períodos variables, aunque la causa de la elevación persista (Pickering, 1981). A pesar de ser un parámetro para evaluar intensidad de respuesta, se considera que lo inverso también es verdadero, asumiéndose que valores bajos de cortisol no significan ausencia de estrés (Hontela *et al.*, 1992)

El desarrollo reproductivo y las modificaciones del estado nutricional o de la edad son acompañados naturalmente de cambios en los niveles de cortisol, significando que muchas veces las alteraciones son reflejos del metabolismo animal y no una respuesta al estrés. Como ejemplo Pottinger & Carrick (1999) demostraron que peces seleccionados por tener niveles bajos de cortisol, presentaron menor factor de condición que aquellos con niveles más altos.

La concentración plasmática de cortisol es el resultado de un proceso dinámico entre lo producido y lo eliminado, y debido a que no necesariamente muestra una elevación durante el estrés, podría en ciertos casos no ser un buen indicador de este (Vijayam *et al.*, 1991).

Pequeñas elevaciones de los niveles de cortisol o la falta de elevación, pueden asociarse con mejoras en el “clearance” o “down regulation” para ACTH, o bien aumentos de oxigenasas y de enzimas de conjugación. Por otro lado, la ausencia de mineralocorticoides específicos en peces y su substitución parcial por el cortisol, incorporan un dualismo funcional interesante, aumentando la complejidad de la acción hormonal (Mommsem *et al.*, 1999).

Entre 90 y 95% del cortisol plasmático se encuentra ligado a proteínas permaneciendo inactivo en esta condición, por lo que alteraciones en las concentraciones de estas proteínas producen grandes modificaciones de la fracción libre o activa. Mommsem *et al.* (1999) postularon que en el estrés crónico, la cantidad de proteína específica, de unión e inactivación es mayor. Varios factores ambientales también pueden modificar el *clearance* del cortisol, inclusive la salinidad que favorece la eliminación del mismo, explicando en parte, los beneficios de la utilización de cloruro de sodio en sistemas de transportes de peces (Carneiro & Urbinati, 2001).

Una marcada elevación del cortisol durante períodos prolongados sería perjudicial para el organismo, por lo que existen mecanismos moduladores de su producción. Cuando los macrófagos estimulan el eje hipotálamo-pituitaria-interrenal (HPI), también secretan factores que inhiben la producción adrenal de esteroides, como el factor de crecimiento de tejidos B (TGF-B) (Bateman *et al.*, 1989).

En peces, faltan trabajos específicos sobre la cronobiología del cortisol, en especies de hábitos nocturnos o diurnos. El ritmo circadiano debe ser contemplado, pues la aplicación de cualquier estímulo en períodos donde la concentración sérica es normalmente alta (acrofase) no se traduce en la potencialización de la respuesta.

Acciones del cortisol

El cortisol afecta el metabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos. Su acción metabólica es realizada a través de mecanismos rápidos, no genómicos (Borski *et al.*, 1991) o mecanismos lentos con modificación genómica, de duración más prolongada, siendo más accesibles experimentalmente.

Las reservas hepáticas de carbohidratos, almacenadas en forma de glucógeno son modificadas durante el estrés. La participación del cortisol en este proceso generó resultados contradictorios, pues algunas veces el aumento del cortisol fue relacionado con aumentos en el glucógeno, y otras con su disminución. Para algunos autores, el glucógeno no se modificaría en los casos de estrés agudo (Vijayan & Moon, 1992, Vijayan *et al.*, 1994), en tanto que modificaciones en el mismo por la acción de catecolaminas y cortisol fueron reportados en otros trabajos (Hemre & Kragdall, 1996; Andersen *et al.*, 1991).

Probablemente las acciones del cortisol se limiten a incrementar la capacidad de gluconeogénesis del hígado, principalmente a partir de fuentes como alanina y lactato, por aumento de enzimas claves del proceso: glucosa-6-fosfatasa, PECPK y fructosa bifosfatasa; como se ha demostrado en situaciones de ayuno, en que los hepatocitos de los peces pueden incorporar 8 veces más alanina.

Se postula la presencia de mecanismos de control que previenen la degradación del glucógeno en algunas situaciones y en otras las incrementan, a través del aumento de la sensibilidad del hepatocito o de modificaciones en las señales de traducción (Vijayan *et al.*, 1994). El cortisol promueve la actividad de la enzima glucógeno sintetasa, aumentando la deposición de glucógeno en el hígado y no su disminución, lo cual puede ser observado por el análisis de índices somáticos, tal como el índice hepatosomático. Además de esto, después del estímulo estresante, aumenta la capacidad del hígado para responder a la insulina, con formación rápida de glucógeno (Pereira *et al.*, 1995).

Otra fuente de glucógeno es el tejido muscular, que muchas veces constituye la primera en ser utilizada, lo que contribuiría a la poca variación de las reservas hepáticas inmediatamente después del estrés.

Las enzimas de los procesos de glicólisis, ciclo del ácido tricarboxílico, *shunt* de pentosa fosfato, gluconeogénesis y síntesis de glucógeno fueron demostradas en peces (Wilson *et al.*, 1983). La síntesis y la degradación son procesos íntimamente relacionados y sus vías metabólicas son reguladas por la acción hormonal, la cual responde a niveles de metabolitos presentes y a las necesidades de energía (Champe & Harvey, 1997)

Uno de los parámetros utilizados en estudios de estrés es la modificación de la glucosa plasmática. La hiperglucemia observada durante el estrés es resultado de la glucogenólisis y gluconeogénesis, estando implicados en este efecto tanto catecolaminas como cortisol. Algunos trabajos responsabilizan directamente a las catecolaminas de producir este aumento, en tanto que igual situación es observada cuando se aplica cortisol. Wenderlaar Bonga (1997) propone que la glucosa plasmática es mediada en corto tiempo por las catecolaminas y en largo plazo por el cortisol, lo que concuerda con Pottinger & Carrick (1999) que postulan la activación de los ejes simpático cromafin e HPI.

La glucosa plasmática es un parámetro alternativo para evaluar la magnitud de la respuesta, teniendo la ventaja de la facilidad de determinación y que la faja de elevación es más estrecha que la del cortisol, incrementándose 2 veces en comparación con las 100 veces que el cortisol se puede elevar (Pottinger & Carrick, 1999). El inconveniente de esta variable está basado en su íntima relación con el estado nutricional y con la dieta, los cuales pueden alterar fácilmente las cantidades de glucosa circulante (Barton *et al.*, 1988; Vijayam & Moon, 1992). También se

debe considerar que factores externos como la temperatura tienen más influencia sobre la glucemia que sobre el cortisol, que siempre se eleva por el aumento de la temperatura (Barton *et al.*, 1987).

El cortisol y la glucemia son modificados con velocidades diferentes, observándose que la glucemia aumenta en forma más lenta y permanece elevada por períodos más prolongados que el cortisol (Schreck, 1981), sugiriendo que evaluaciones cuidadosas deben ser hechas al interpretar los resultados obtenidos. El efecto protector de la hiperglucemia resulta oneroso para el organismo, que para disminuir el costo energético aumenta la resistencia temporaria de los tejidos periféricos a la insulina, reduciendo la utilización total de la glucosa a la vez que aumenta la lipólisis generando más glucosa. Todos estos procesos están mediados por hormonas contra reguladoras como catecolaminas, cortisol y glucagón (Champe & Harvey, 1997, Mommsem *et al.*, 1999).

El cortisol tiene actividad proteolítica en músculo blanco y tal vez en el hígado, con aumento de aminoácidos en plasma, que en algunas especies pueden ser utilizados en la gluconeogénesis. Interfiere en los centros neurales de saciedad, disminuye la absorción de nutrientes por el intestino y el número de receptores celulares para la hormona del crecimiento (GH) (Mommsem *et al.*, 1999).

En 1939, Selye estableció índices morfológicos del estrés, al observar en mamíferos el aumento de la glándula adrenal, atrofia de órganos linfoides y úlceras gastrointestinales. En peces con implantes de cortisol se describieron atrofia de mucosa gástrica, disminución de la absorción de nutrientes, menor eficiencia de conversión y pérdida de peso (Barton *et al.*, 1987). Provoca además, disminución de la hormona triiodotironina (T_3), que es una llave reguladora de la entrada de nutrientes (Bertok, 1998). Posteriormente se incorporaron otras modificaciones estructurales como las observadas en las branquias de peces de ambientes contaminados (Audet & Wood, 1993) durante la adaptación a aguas pobremente mineralizadas (Laurent *et al.*, 1994) o en otras situaciones de estrés (Wendelaar Bonga, 1997).

El cortisol inhibe la testosterona y disminuye la cantidad de receptores para estrógenos en el hígado, afectando también la síntesis de vitelogenina, lo que perjudica la calidad de las gametas (Blázquez *et al.*, 1998, Teitsma *et al.*, 1998). También es responsable por la disminución de la inmunocompetencia observada en peces estresados (Barton & Iwama, 1991, Wendelaar Bonga, 1997) Su elevación desde concentraciones basales de menos de 2 ng/ml^{-1} a 10 ng/ml^{-1} , son suficientes para predisponer a los peces a enfermedades. Este efecto es explicado en parte, por la disminución de la quimiotaxia, fagocitosis y producción de óxido nítrico en los leucocitos, actividades importantes en los procesos inflamatorios (Narnaware *et al.*, 1994, Kaatari & Tripp, 1987, Ottaviani & Franceschi, 1998).

Los efectos de los corticoides sobre el sistema inmune son extremadamente diversos. La marcada disminución de los linfocitos, que puede alcanzar hasta el 60 %, ha sido descrita en numerosos trabajos (Maule & Schreck, 1990, Ruane *et al.*, 1999). Una vez más, las respuestas no son uniformes, ya que se observó que los elementos celulares no son afectados de igual manera. Según Wenderlaar Bonga (1997), durante el transporte y manejo existe disminución de linfocitos B en la circulación y aumento de los T, en tanto que la producción de anticuerpos no se modifica.

La disminución de linfocitos, vista como inmunosupresión, deja interrogantes sobre su significado. Los conocimientos actuales demuestran que los linfocitos B disminuyen en la sangre y simultáneamente se observa aumento de estas células en el riñón, timo, branquias y piel, que son sitios donde macrófagos, células presentadoras de antígenos y células de memoria están en intenso intercambio (Maule & Schreck, 1990). Este proceso puede interpretarse como una estrategia del organismo para direccionar sus defensas donde más necesita y no como una inmunosupresión. En este sentido es preferible utilizar el concepto de “vigilancia inmunológica” propuesto por Dhabhar *et al.* (1995) que aquel más simplista de linfopenia.

Existen pocos trabajos sobre la actividad inmunoestimulante de los glucocorticoides, posiblemente por la dificultad para detectarla y por su interacción con otros mecanismos envueltos en el mismo. El cortisol induce la formación de citoquinas, importantes mensajeros en el proceso inflamatorio, y junto con la IL-6 generada, estimulan la síntesis de glucoproteínas ácidas que bloquean al factor de necrosis tumoral $TNF\alpha$, reduciendo marcadamente la letalidad de algunos procesos infecciosos. Además de eso, tiene control autócrino sobre linfocitos B impidiendo su migración, con el objetivo de restringir localmente la reacción. Por su parte, la capacidad fagocítica de los neutrófilos registra aumento en presencia de cortisol (Bateman *et al.*, 1989, Wilckens & de Rijk, 1997).

En la activación del eje HPI se observa la complejidad de relaciones de los sistemas y la presencia de mecanismos de control para cada una de las modificaciones que ocurren, los cuales tienen como objetivo el mantenimiento de la homeostasis.

EJE SIMPÁTICO-CROMAFIN

La liberación de las catecolaminas adrenalina y noradrenalina en la circulación sanguínea acontece cuando el animal experimenta diversos tipos de estrés, adaptando el metabolismo para las nuevas exigencias. En peces no fue encontrada una estructura que se corresponda con la glándula adrenal de otros vertebrados. Las catecolaminas son sintetizadas, almacenadas y liberadas desde las células cromafines, situadas próximas a las venas

cardinales posteriores en el riñón anterior, careciendo de relación estrecha con las células interrenales (Pickering, 1981, Reid *et al.*, 1998). Adrenalina y noradrenalina están presentes en el plasma de los peces y la importancia de cada una varía con la especie (Mazeaud *et al.*, 1977).

Dependiendo de las condiciones experimentales, la acción de adrenalina y noradrenalina sobre el músculo cardíaco y vasos sanguíneos pueden tener efectos aditivos o antagónicos, produciendo respuestas hemodinámicas opuestas, bradicardia y taquicardia descritas en la literatura, que dificultan el análisis comparativo. La función de las catecolaminas incluye ajustes cardiovasculares, respiratorios, metabólicos y sobre la actividad de los eritrocitos. En la respuesta influye la temperatura, provocando efectos cronotrópicos, positivos cuando desciende y negativos cuando sube (Mazeaud & Mazeaud, 1981).

Varios tipos de estrés inducen la elevación de las catecolaminas en pocos minutos según Wendelaar Bonga (1997) y Mazeaud *et al.* (1977). Según Perry & Bernier (1999) la liberación de las catecolaminas no sería tan rápida, y la participación de las mismas en la hiperventilación es cuestionada, ya que en estrés medio se observa hiperventilación en los momentos en que las catecolaminas en la circulación no están elevadas, y la adición de catecolaminas en peces previamente estresados resultó en hipoventilación.

La circulación de las branquias responde rápidamente a las catecolaminas, las que inducen a una disminución de la resistencia a la circulación, incrementando la media de difusión de oxígeno, que puede alcanzar 4-12 veces de aumento. La permeabilidad de las branquias para el agua está aumentada (Pic *et al.*, 1975), hay fallas en la bomba Na-K-ATPasa y disminución de la prolactina (Wendelaar Bonga, 1997), determinando la imbibición de los tejidos de peces de agua dulce con la consiguiente ganancia de peso, factor a tener en cuenta en el análisis de la performance de los individuos, ya que pueden ser falsos indicadores de confort.

La habilidad para estimular directamente centros nerviosos es diferente entre las dos catecolaminas. La barrera hematoencefálica se presenta impermeable para adrenalina (Nekvasil & Olson, 1986), que es la catecolamina predominante en la trucha y no para noradrenalina, situación que no está esclarecida.

Las catecolaminas aumentan el pH de los eritrocitos y producen acidificación del plasma, permitiendo el aumento de la afinidad de O₂ por la hemoglobina (Soivo & Nikinmaa, 1981), lo que solo fue observado en peces. El hematocrito es alterado por la acción de las catecolaminas, a través de la contracción de la musculatura lisa y de las fibras elásticas de la cápsula del bazo, que funciona como reservorio de eritrocitos, aumentando su número, y a través del incremento del tamaño celular, con mayor concentración de hemoglobina, mejorando la eficiencia del transporte de O₂ necesario para los requerimientos metabólicos

aumentados por el estrés, pero simultáneamente disminuye la resistencia del eritrocito al flujo sanguíneo (Wenderlaar Bonga, 1997).

La inducción al oscurecimiento rápido de la piel de peces es adjudicada a la acción de las catecolaminas relacionadas con $MSH\alpha$. La adaptación cromática rápida es posible gracias a la agregación o dispersión de gránulos de melanina dentro de células pigmentarias dendríticas, denominados melanocitos o melanóforos, derivadas de la cresta neural (Mazeaud & Mazeaud, 1981). En la actualidad el descubrimiento de actividades antiinflamatorias de $MSH\alpha$ (Lipton & Catania, 1997) sugiere que su participación en algunos tipos de estrés es más complicada que un simple cambio de color, abriendo camino para futuras investigaciones.

EJE SOMATOTRÓFICO

Entre las hormonas que el hipotálamo elabora están la GHRH (hormona liberadora de la hormona del crecimiento) y la somatostatina, que regulan la síntesis y liberación de la hormona del crecimiento (GH), estimulando o inhibiendo, respectivamente. En peces la potencia del polipéptido activador de la adenilciclase es superior a GHRH en la estimulación de GH (Montero *et al.*, 2000). Otras hormonas como β endorfinas, polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), glucagón, neurotensinas, galamina, bombesina, colecistocinina y TRH, también estimulan la liberación de GH, probablemente por actuar sobre GHRH. La dopamina y serotonina también son estimulantes, aunque por medio de otros mecanismos (Phale, 1998). GH circula en la sangre unida parcialmente a proteínas específicas (GHBP) e inhibe su propia secreción actuando directamente sobre GHRH y elevando los niveles de somatostatina. Tanto GH, PRL como IGF-1 son hormonas anabólicas que regulan el crecimiento corporal, metabolismo, reparación de tejidos y crecimiento, reparación y funcionamiento del sistema inmune (Bjornsson *et al.*, 1994).

Aunque no existen suficientes trabajos, se acepta que el estrés puede reducir el crecimiento de los peces (Wedemeyer, 1976). Dos décadas atrás, los resultados de algunos trabajos demostraban los escasos efectos del estrés agudo sobre el crecimiento de los peces (Pickering *et al.*, 1982, Barton *et al.*, 1987). Sin embargo, Mc Cormick *et al.* (1998) observaron que el estrés de manejo diario redujo significativamente el crecimiento de salmones, y encontraron niveles elevados de GH en peces estresados, lo que fue interpretado como una importante participación de esta hormona para atender las demandas energéticas elevadas del estrés. Anteriormente Farbridge *et al.* (1992) propusieron que GH en los peces también tiene efectos catabólicos, por la estimulación metabólica que tiende a la liberación de energía por los órganos para colaborar en la respuesta al estrés.

Muchos tejidos elaboran GH, entre ellos el linfoide, pero su producción siempre es inferior a la de la hipófisis, hecho probado con animales hipofisectomizados que no reconstituyen los niveles normales. GH no tiene efectos cuando las condiciones son sub-óptimas, como en la restricción alimentaria, en tanto que la hipoglucemia constituye un potente estímulo para liberación de GH.

Al inicio del estrés existe rápido aumento de GH por activación de vías adrenérgicas (Mc Cormick *et al.*, 1998) para una veloz movilización de energía y es seguido de una caída, la cual, dependiendo del tipo de estrés, puede mantener niveles bajos de hormona por algún tiempo (Carrol *et al.*, 1998)

La cinética del eje somatotrófico en estrés poco intensos demuestra que la curva de ascenso de GH ocurre más rápidamente que la del cortisol. Esto se puede explicar por el hecho que la hiperglucemia provoca aumento de somatostatina y consiguiente disminución de GH en tanto que el estrés crónico suprime la secreción de GH (Pickering *et al.*, 1991, Mc Cormick *et al.*, 1998).

Muchos de los efectos de GH son realizados indirectamente vía IGF-1, hormona producida en el hígado por la estimulación directa de GH (Davis, 1998, Matteri *et al.*, 2000). Estas dos hormonas actúan juntas controlando el crecimiento del cartílago y el desarrollo de tejidos hematopoyéticos (Hooghe *et al.*, 1993). IGF-1 se encuentra unido a 6 tipos de proteínas plasmáticas que aumentan cuando es necesario su bloqueo.

Durante los períodos de baja ingestión alimentaria de proteínas se observa caída en la producción de IGF-1 por insensibilidad del hígado para GH (Matteri *et al.*, 2000). Si bien la entrada de alimento es necesaria para el crecimiento y sobrevivencia de todos los animales, animales enfermos o desafiados con patógenos disminuyen la entrada de nutrientes (Johnson, 1998).

Procesos infecciosos disminuyen el apetito, la conversión es ineficiente, el crecimiento es lento, sugiriendo una relación entre sistema inmune y nervioso en la regulación de la ingesta. La producción de citoquinas IL-1B, IL-6 y TNF α determinan estado de anorexia, que puede ser interpretada como respuesta adaptativa, pues existe relación positiva entre disminución de entrada de alimentos y de peso, con aumento de las posibilidades de sobrevivencia. Además fue observado que animales forzados a comer presentaron mayor porcentaje de mortalidad que aquellos que disminuyeron voluntariamente la ingesta (Jonhson, 1998). El mantenimiento de la inmunidad demuestra una alta demanda energética pues animales con elevada respuesta de anticuerpos son pequeños y con menor eficiencia alimenticia que aquellos cuyos niveles de anticuerpos son menores (Gross & Siegel, 1988).

Tanto GH como IGF-1 son propuestos como hormonas antiestrés, contra-balanceando la inmunosupresión provocada por los esteroides adrenales. En situaciones de estrés intenso las hormonas somatogénicas pueden reparar la función inmune. IGF-1 actúa en el sistema inmune con efectos positivos, aumentando el número de linfocitos T y B, lo que determina el aumento del tamaño de órganos como bazo y timo. Este aumento de los linfocitos es por estímulo directo sobre las células progenitoras y por la entrada de linfocitos esplénicos en fase S del ciclo celular. El funcionamiento de IGF-1 muchas veces es comparado con el de colonias formadoras de células (CFS), porque promueve la supervivencia celular, con marcados efectos anti-apoptóticos, mejora la función celular y aumenta la síntesis de ADN (Clark, 1997).

El neuropéptido Y (NPY), uno de los más potentes estimuladores de la ingestión de alimentos, fue demostrado en el hipotálamo y en órganos del sistema inmune (Straub *et al*, 1998). La restricción alimentaria induce al aumento de NPY provocando incremento inmediato del apetito. NPY es regulado por la leptina, hormona producida en el tejido adiposo, que disminuye la ingestión de comida. En la injuria producida por procesos inflamatorios aparecen profundos cambios en el eje somatotrofo y en las hormonas relacionadas; como ejemplo de esto, las citoquinas actúan sobre células adiposas liberando leptina y disminuyendo el apetito (Johnson, 1998). Los glucocorticoides aumentan la leptina plasmática, lo que disminuye la alimentación, postulándose que el estrés aumenta la sensibilidad para CRF y provoca disminución de NPY. A su vez, CRF influencia directamente la ingestión de alimentos, así como la galamina y colecistocinina también influyen el apetito, demostrando que parte del efecto no está mediado por NPY.

EJE PROLACTÍNICO

La prolactina (PRL) muestra semejanza estructural con GH, particularmente en regiones específicas, lo que sugiere que pueden derivar de un gen ancestral común (Nicoll, 1993), presentando algunas acciones metabólicas compartidas, como es el aumento de la síntesis proteica, el crecimiento del cartílago y la acción diabetógena. Es reconocida como inmunomoduladora y varios trabajos observan que en la hipoprolactinemia hay una importante disminución de linfocitos (Clark, 1997).

Entre los factores que estimulan la síntesis de PRL figuran: TRH, serotonina, VIP, neurotensina, angiotensina, vasopresina, sustancia P y oxitocina. A diferencia de otras hormonas, PRL no tiene un factor inhibidor específico. Solo el hipotálamo ejerce un tono inhibidor sobre PRL, mediado principalmente por la dopamina.

PRL también es considerada como promotora de la adaptación a ambientes hiposmóticos, con importante rol en teleósteos de agua dulce en los que contribuye al equilibrio hidromineral (Manzon, 2002). La importancia de la PRL en respuestas adaptativas a los cambios en la osmolaridad del agua, fue demostrada por Auperim *et al.* (1997) que registraron aumentos de cortisol y PRL en esta situación, en contraste con la disminución citada por Pottinger *et al.* (1992). Estas diferencias posiblemente no se deban a la variación de especies como atribuyeron los autores y si al tipo de estrés o condiciones de temperatura que modifican marcadamente la respuesta de PRL.

Los aumentos de PRL pueden depender de la serotonina y se constituyen en importantes medios que el organismo tiene para contrabalancear los efectos inmunosupresivos del eje HPA. PRL aumenta el péptido tímico denominado timulina, estimula la actividad de los linfocitos (Davis, 1998) y se propone una actividad moduladora de secreción de cortisol.

La prolactina tiene actividades parecidas a las citoquinas, con importante función inmunoreguladora, contribuyendo al desarrollo del tejido linfoide. En este sentido, estudios *in vitro* sugieren que los linfocitos son blanco importante de su función (Hooghe *et al.*, 1993). La prolactina y GH estimulan la actividad de células NK y la fagocitosis, en tanto que hormonas del eje HPA la deprimen. En teleósteos, se registra participación de PRL en los procesos de ósmosis en branquias, evitando la excesiva entrada de agua, estimulando la secreción de mucus e incrementando el tamaño del estrato mucoso. También disminuye la permeabilidad del epitelio renal y aumenta la diuresis (Wendelaar Bonga, 1997).

EJE TIROTROFICO

La hormona tirotrófica (TSH), producida en la hipófisis, estimula la glándula tiroides para secretar T3 y T4, que son potentes reguladores metabólicos. Es muy sensible a las variaciones de la temperatura, principalmente cuando esta desciende. Su cinética es diferente a la descrita para ACTH. Temperaturas bajas estimulan la liberación de ACTH, que permanece alta durante una hora, en tanto que hormonas tiroideas permanecen elevadas durante 5 días (Davis, 1998).

El estrés agudo aumenta o disminuye TSH dependiendo de la especie y condiciones experimentales. Estrés nutricional o situaciones de aumento del cortisol, disminuyen TSH, demostrando la tendencia adaptativa de la respuesta que permite direccionar las modificaciones metabólicas.

Existe estrecha relación entre las hormonas tiroideas (T3 y T4) y GH. T3 y T4 son imprescindibles para el crecimiento y la reparación de tejidos, sugiriéndose que estas hormonas estimulan la síntesis de receptores tisulares de GH. Además, las hormonas de este eje son estimulantes naturales del tejido linfoide, favoreciendo la proliferación de linfocitos y la síntesis de timulina (Dardene & Savino, 1994).

EJE GONADOTRÓFICO

Las gonadotropinas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), secretadas por la hipófisis, son positivamente reguladas por el factor de liberación de las gonadotropinas (GnRH), producido en el hipotálamo (Peter, 1983) y controlado por la dopamina en muchos teleosteos (Weltzien *et al.*, 2004). Situaciones de estrés son muy conocidas como factores que perjudican la performance reproductiva (Carragher *et al.*, 1989, Teitsma, *et al.*, 1998, Schreck *et al.*, 2001). El estrés agudo puede aumentar solo LH y no FSH, lo que ya constituye un bloqueo para GnRH. Sin embargo, no es totalmente claro el nivel de la cascada biológica que es afectado. Los primeros estudios *in vitro* sugirieron que el incremento en los niveles de cortisol circulante actúa directamente sobre la esteroideogénesis gonadal (Carragher & Sumpter, 1990) y trabajos posteriores muestran la acción del cortisol como estimulante algunas veces e inhibitoria en otras (Pankhurst & Van Der Kraak, 2000), observándose algunas variaciones en relación al momento reproductivo de los peces. Así, hembras previtelogénicas estresadas tuvieron disminución temporal de testosterona, aunque los niveles de 17 B estradiol y gonadotropina no se modificaron, en tanto que en hembras vitelogénicas, el aumento de cortisol plasmático produjo disminución de estradiol. Esto sugirió la idea que si bien los efectos reproductivos del estrés son mediados por el cortisol, no envuelven la secreción de gonadotropina, pero actúan posiblemente en las señales de transducción (Pankhurst & Van Der Kraak, 2000).

La disminución de GnRH y de todas las funciones del eje gonadotrófico durante el estrés crónico significan importantes respuestas adaptativas que privilegian funciones de mantenimiento de la homeostasis sobre las reproductivas. El estrés influencia el eje porque la elevación de vasopresina, ACTH, opioides y CRH también disminuyen GnRH. Los glucocorticoides elevados pueden ejercer influencias por modificar la sensibilidad a FSH y LH en sus respectivos órganos blancos y suprimir los procesos endócrinos que actúan sobre la maduración sexual, disminuyendo los niveles de testosterona (Pickering, *et al.*, 1987, Kubokawa *et al.*, 1999) el tamaño de gónadas y por lo tanto, afectando el índice gonadosomático (Pickering, 1989). Además se registra reducción de receptores para

estrógenos en hígado, lo que afecta indirectamente la síntesis de vitelogenina (Pottinger & Pickering, 1990).

Importantes diferencias en las respuestas también fueron relacionadas al grado de adaptación al cautiverio. Salmónidos de poblaciones silvestres demostraron mayor sensibilidad en los procesos reproductivos que los peces de *stocks* domésticos, sugiriendo que el proceso de domesticación obliga a las poblaciones, a través de la selección, a bajar la sensibilidad al estrés (Pankhurst & Van Der Kraak, 2000).

CONCLUSIONES

La activación de los ejes y la relación entre sistemas fueron demostrados en diferentes tipos de estrés. Actualmente se propone el concepto de bi-direccionalidad, término que mejor representa la relación entre los sistemas nervioso, endócrino e inmune. La presencia de receptores para hormonas en células del sistema inmune, así como la existencia de receptores para citoquinas en células del sistema neuroendócrino sustentando esa bi-direccionalidad, fueron extensamente investigados (Straub *et al.*, 1998; Weyts *et al.*, 1999; Khansari, *et al.*, 1990; Bergquist *et al.*, 1998; Lipton & Catania, 1997). Por otro lado, en la teoría de la evolución del sistema inmune (Ottaviani & Franceschi, 1998) se propone un origen común con el sistema neuroendócrino, basado en el macrófago como la pieza clave y en la presencia de mediadores tipo pro-opiomelanocortina, ACTH, β endorfinas, MSH α y noradrenalina en vertebrados e invertebrados.

Los conocimientos obtenidos hasta el presente permiten la comprensión de la fisiología de los sistemas biológicos, abriendo nuevas áreas de trabajo, principalmente destinados a disminuir las situaciones negativas de la práctica diaria.

En la actualidad, prácticamente dos grandes áreas concentran los mayores trabajos. Una de ellas constituye un gran desafío, a través de la selección genética de grupos de animales que demuestran menores consecuencias del estrés y la otra, aparentemente más simple pero no menos importante como es la del manejo alimentario, con adición de sustancias conocidas por sus efectos benéficos sobre el organismo, entre las que se pueden citar vitaminas, minerales, lípidos y las denominadas inmunoestimulantes.

REFERENCIAS

- AINSWORTH, A., DEXIANG, C., WATERSTRAT, P., GREENWAY, T. 1991. Effect of temperature on the immune system of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)-1. Leukocyte distribution and phagocyte function in the anterior kidney at 10 C. *Comparative Biochemical and Physiology A*. 100: 907-912.
- ANDERSEN, D., REID, S., MOON, T., PERRY, S. 1991. Metabolic effects associated with chronically elevated cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 48: 1811-1817.
- AUDET, A., WOOD, C., 1993. Branchial morphological and endocrine responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to a long-term sublethal acid exposure in which acclimation did not occur. *Canadian Journal Fish. Aquatic Science* 50:198-209.
- AUPERIN, B., BAROILLER, J., RICORDEL, M., FOSTIER, A., PRUNET, P. 1997. Effect of confinement stress on circulating levels of growth hormone and two prolactins in freshwater-adapted tilapia (*Oreochromis niloticus*). *General and Comparative Endocrinology* 108, 35-44.
- BALM, P., VAN LIESHOUT, E., LOKATE, J., WENDELAAR BONGA, S. 1995. Bacterial lipopolysaccharides (LPS) and interleukine 1 (IL-1) exert multiple physiological effects in *Oreochromis mossambicus*. *Journal Comparative Physiology B*. 165: 85-92.
- BARTON, B., SCHRECK, C., BARTON, L. 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 2: 173-185.
- BARTON, B.; SCHRECK, C., FOWLER, L. 1988. Fasting and diet content affect stress-induced changes in plasma glucose and cortisol in juvenile Chinook salmon. *Progressive Fish Culturist* 50: 16-22.
- BARTON, B., IWAMA, G. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Rev. of Fish Disease*, 3-26.
- BATEMAN, A., SING, A., KRAL, T., SOLOMON, S. 1989. The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrine Reviews* 10: 92-112.
- BERGQUIST, J., TARKOWSKI, A., EWING, A.; EKMAN, R. 1998. Catecholaminergic suppression of immunocompetent cells. *Immunology Today*, 19, 12: 562-567.
- BERTOK, L. 1998. Endotoxins and Endocrine System. *Domestic Animal Endocrinology*. Vol. 15(5): 305-308.
- BILLARD, R., BRY, C., GILLET, C. 1981. Stress environment and reproduction in teleost fish. In: *Stress and Fish*. Pickering ed. London, Academic Press. 185-201.
- BJORNSSON, B., TARANGER, G., HANSEN, T., STEFANSSON, S., HAUX, C. 1994. The interrelation between photoperiod , growth hormone and sexual maturation of adult Atlantic salmon (*Salmo salar*). *General Comparative Endocrinology* 93: 70-81.
- BLÁZQUEZ, M. BOSMA, P., FRASER, E., VAN LOOK, K., TRUDEAU, V. 1998. Fish as models for the neuroendocrine regulation of reproduction and growth. *Comparative Biochemistry and Physiology Part. C*. 119: 345-364.
- BORSKI, R., HELMS, L., RICHMAN, N., GRAU, E. 1991. Cortisol rapidly reduces prolactin release and AMPc and ⁴³Ca² accumulation in the cichid fish pituitary *in vitro* *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)* 88, 2758-2762.
- CARNEIRO, P., URBINATI, E. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrixinã *Brycon cephalus* (Ghunter) during transport. *Aquaculture Research* 32:1-8.
- CARROL, J., VEUM, T., MATTERI, R. 1998. Endocrine responses to weaning and changes in post-weaning diet in the young pig . *Domestic Animal Endocrinology* 15: 183-184.
- CARRAGHER, J., SUMPTER, J. 1990. The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. *Genetic and Comparative Endocrinology* 77: 403-407.
- CARRAGHER, J., SUMPER, J., POTTINGER, T., PICKERING, A. 1989. The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* and *Salmo gairdneri* Richardson. *General and Comparative Endocrinology* 77:310-320.
- CHAMPE, P.; HARVEY, R. 1997. *Bioquímica Ilustrada*. 2 ed. Artes Médicas, 445 p.
- CLARK, R. 1997. The somatogenic hormones and insulin like growth factor-1: stimulators of lymphopoiesis and immune function. *Endocrine Reviews* 18: 157-179.
- DARDENE, M., SAVINO, W. 1994. Control of thymus physiology by peptidic hormones and neuropeptides. *Immunology. Today* 15:518-523.
- DAVIS, S. 1998. Environmental modulation of the immune system via the endocrine system. *Domestic Animal Endocrinology*. 15(5): 283-289.

- DHABHAR, F., MILLER, A., McEWEN, B., SPENCER, R. 1995. Effects of stress on Immune Cell Distribution Dynamics and Hormonal Mechanisms. *Journal of Immunology* 154(10): 5511-5527.
- DONALDSON, E. 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 11-47.
- FABRI, E., CAPUZZO, A., MOON, T. 1998. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: an overview. *Comparative Biochemistry and Physiology Part. C.* 120: 177-192.
- FARBRIDGE, K., FLETT, P., LEATHERLAND, J. 1992. Temporal effects of restricted diet and compensatory increased dietary intake on thyroid function, plasma growth hormone levels and tissue lipid reserves of rainbow trout *Oncorhynchus mikiss*. *Aquaculture* 104: 157-174.
- FRIES, C. 1986. Effects of environmental stressors and immunosuppressants on immunity in *Fundulus heteroclitus*. *American Zoology.*, 26:271-282.
- GROSS, W., SIEGEL, P. 1988. Environment-genetics influences on immunocompetence. *Journal Animal Science* . 66:2091-2094.
- HARVEY, S. 1993. Growth hormone secretion in poikilotherms and homeotherms. In: *The endocrinology of growth, development and metabolism in vertebrates*. M. Schreibman ed. Academic Press, 183-196.
- HEMRE, G., KROGDAHL, A. 1996. Effect of handling and fish size on secondary changes in carbohydrate metabolisms in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture Nutrition* 2, 249-252.
- HONTELA, A., RASMUSSEN, J., AUDET, C., CHEVALIER G. 1992. Impaired Cortisol Stress Response in Fish from Environments Polluted by PAHs, PCBs, and Mercury. *Archive Environmental Contam. Toxicology.* 22:278-283.
- HONTELA, A. 1997. Endocrine and physiological responses of fish to xenobiotics: role of glucocorticosteroid hormones. *Reviews in Toxicology* 1: 1-46.
- HOOGE, R., DELHASE, M., VERGANI, P., MALUR, A., HOOGR-PETERS, A. 1993. Growth hormone and prolactin are growth and differentiation factors in the haemopoietic system. *Immunology Today* 14 (5): 212-214.
- JOHNSON, R. 1998. Immune and endocrine regulation of food intake in sick animals. *Domestic Animal Endocrinology* 15(5): 309-319.
- KAATARI, S., TRIPP, R. 1987. Cellular mechanisms of glucocorticoid immunosuppression in salmon. *Journal Fish Biology* 31 A: 129-132.
- KHANSARI, D., MURGO, A., FAITH, R. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunology Today* 11, 5: 170-175.
- KUBOKAWA, K, WATANABE, T., YOSHIOKA, M., IWATA, M. 1999. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during the breeding season. *Aquaculture*, 172: 335-349.
- LAURENT P., DUNEL ERB, S., CHEVALIER, C. 1994. Gills epithelial cells kinetics in firewater teleost *Oncorhynchus mykiss* during adaptation to ion poor water and hormonal treatments. *Fish Physiology and Biochemistry.* 13, 5: 353-370.
- LEATHERLAND, J., CHO, C. 1985. Effect of rearing density on thyroid and interrenal gland activity and plasma and hepatic metabolite levels in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 27: 583-592.
- LIPTON J., CATANIA A. Anti-inflammatory actions of the neuroimmunomodulator and MSH α . *Immunology Today* 18, 3: 140-145.
- MANZON, L. 2002. The role of prolactin in fish osmoregulation: a review. *General and Comparative Endocrinology* 125: 291-310.
- MCCORMICK, S., SHRIMPTON, J., CAREY, J., O'DEA, M., SLOAN, K., MORIYAMA, S., BJÖRNSON, B. 1998. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol. *Aquaculture* 168: 221-235.
- MATTERI, R., BECKER, B. 1994. Somatotroph, lactotroph, and tirotroph function in three-week-old gilts reared in hot or cool thermal environment. *Domestic Animal Endocrinology* 11:217-226.
- MATTERI, R., CARROL, J., DYER, C. 2000. Neuroendocrine responses to stress. In: *The Biology of Animal Stress*. Eds. G. Moberg and J. MENCH. p 43-76.
- MATTY, A. 1985. *Fish Endocrinology*. Ed. Timber Press, Portland. USA. 265 p.
- MAULE, A., SCHRECK, C. 1990. Changes in numbers of leukocytes in immune organs of juvenile coho salmon after acute stress or cortisol treatment. *Journal Aquatic Animal Health* 2:298-304.
- MAZEAUD, M., MAZEAUD, F., 1981. Adrenergic responses to stress in fish. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 49-75.

- MAZEAUD, M., MAZEAUD, F., DONALDSON, E. 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society*. 106, 201-212.
- MOMMSEN, T., VIJAYAN, M., MOON, T. 1999. Cortisol in teleost: dynamics, mechanism of action and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 9: 211-268.
- NARNAWARE, Y., BAKER, B., TOMLINSON, M. 1994. The effect of various stress, corticosteroids and adrenergic agents on phagocytosis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 13, 1: 31-40.
- MONTERO, M., YON, L., KIKUYAMA, S., DUFOUR, S., VAUDRY, H. 2000. Molecular evolution of the growth hormone-releasing hormone/pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide gene family: functional implication in the regulation of growth hormone secretion. *J. Mol. Endocrinol.* 25, 157-168.
- NEKVASIL, N., OLSON, K. 1986. Extraction and metabolism of circulating catecholamines by the trout gill. *American Journal Physiology*. 152: 67-72.
- NICOLL, C. 1993. Role of prolactin and placental lactogens in vertebrate growth and development. In: *The endocrinology of growth, development and metabolism in vertebrates*. M. Schreibman ed. Academic Press, 183-196.
- OTTAVIANI, E., FRANCESCHI, C. 1998. A New Theory on the Common Evolutionary Origin of Stress response: The invertebrate phagocytic immunocyte as an eye-witness. *Domestic Animal Endocrinology*. 15: 291-296.
- PANKHURST, N., VAN DER KRAAK, G. 2000. Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol. *General and Comparative Endocrinology* 117: 225-237.
- PEREIRA, C., VIJAYAN, M., STOREY, K., JONES, R., MOON, T. 1995. Role of glucose and insulin in regulating glycogen synthase and phosphatylase activities in rainbow trout hepatocytes. *Journal Comparative Physiology*. 165B:62-70.
- PETER, R. 1983. The brain and neurohormones in teleosts reproduction. In: Hoar, W., Randall, D., Donaldson, E. (eds.) *Fish Physiology IX A. Reproduction*. Academic Press, New York, 97-135.
- PERRY, S., BERNIER, N. 1999. The acute humoral adrenergic stress response in fish: facts and fiction. *Aquaculture* 177: 285-295.
- PHALE, S. 1998. The neuroendocrine secretion regulates growth hormone release in teleost fish. *Fishery Technology* 35 (1) 1-8.
- PIC, P., MAYER-GOSTAN, N., MALTS, J. 1975. Branchial effects of epinephrine in the sea water-adapted mullet. II: Na⁺ and Cl⁻ extrusion. *American Journal Physiology*. 228: 441-447.
- PICKERING, A. 1981. The concept of biological stress. In PICKERING, A. Ed. *Stress and Fish*. Academic Press, London : 1-9.
- PICKERING, A. 1989. Environmental stress and survival of brown trout. *Salmo trutta*. *Freshwater Biology*, 21: 47-55.
- PICKERING, A., POTTINGER, T., CHRISTIE, P. 1982. Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time course study. *Journal of Fish Biology* 20:229-244.
- PICKERING, A., POTTINGER, T. 1987. Crowding causes prolonged leucopenia in salmonid fish, despite interrenal acclimation. *Journal of Fish Biology* 30: 701-712.
- PICKERING, A., POTTINGER, T., CARRAGHER, J., SUMPTER, J. 1987. The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *General Comparative Endocrinology* 68: 249-259.
- PICKERING, A., POTTINGER, T., SUMPTER, J., CARRAGHER, J., LE BAIL, P. 1991. Effects the acute and chronic stress of the levels on circulating growth hormone in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*. 83: 86-93.
- PICKFORD, G., SRIVASTAVA, A., SLICHER, A., PANG, P. 1971. The stress response in the abundance of circulating leucocytes in the killifish, *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.* 177: 97-108.
- POTTINGER, T., PICKERING, A. 1990. The effect of cortisol administration on hepatic e plasma estradiol binding capacity in immature female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *General and Comparative Endocrinology* 80:264-273.
- POTTINGER, T. 1998. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers keep nets. *Journal of Fish Biology*. 53: 728-742.
- POTTINGER, T., CARRICK, T. 1999. A comparison of plasma glucose and plasma cortisol as selection markers for high and low stress responsiveness in female rainbow trout. *Aquaculture*. 175: 351-363.

- POTTINGER, T., PRUNET, P., PICKERING, A. 1992. The effects of confinement stress on circulating prolactin levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in fresh water. *General and Comparative Endocrinology* 88:454-460.
- REID, S., PERRY, S. 1994. Storage and differential release of catecholamines in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and American eel (*Anguilla rostrata*). *Physiological Zoology* 67: 216-237.
- REID, S., BERNIER, N., PERRY, S. 1998. The adrenergic stress response in fish: control of catecholamines storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*. 120: 1-27.
- ROBERTSON, L., THOMAS, P., ARNOLD, C., TRANT, J. 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. *The Progressive Fish Culturist* 49: 1-12.
- RUANE, N., WENDELAAR BONGA, S., BALM, P. 1999. Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiology performance during confinement. *General and Comparative Endocrinology* 115, 210-219.
- SELYE, H. 1950. Stress and general adaptation syndrome. *British Medical Journal* 1: 1383-1392.
- SOIVO, A., NIKINMAA, M. 1981. The swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 49-75.
- SOIVO, A., OIKARI, A. 1976. Haematological effects of stress on teleost, *Esox lucius*, L. *Journal of Fish Biology* 8: 397-411.
- SCHRECK, C. 1981. Stress and compensation in teleostean fishes: Response to social and physical factors. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 295-321.
- SCHRECK, C. 2000. Accumulation and long-term effects of stress in fish. In: *The Biology of Animal Stress*. Eds. G. MOBERG and J. MENCH. p 147-158.
- SCHRECK, C., CONTRERAS-SANCHEZ, W., FITZPATRICK, M. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* 197: 3-24.
- SUMPTER, J., DYE, H., BENFEY, T. 1986. The effects of stress on plasma ACTH, α MSH and cortisol levels in salmonid fishes. *General Comparative Endocrinology* 62: 377-385.
- STRAUB, R., WESTERMANN, J., SCHÖLMERICH, J., FALK, W. 1998. Dialogue between the CNS and the immune system in lymphoid organs. *Immunology Today* 19, 9: 409-413.
- TEITSMA, C., LETTHIMONIER, C., TUJAGUE, M., ANGLADE, I., SALIGAUT, D., BAILHACHE, T., PAKDEL, F., KAH, O., DECOURET, B. 1998. Identification of potential sites of cortisol actions on the reproductive axis in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 119: 243-249.
- VAMVAKOPOULOS, N., CHROUSOS, G. 1994. Hormonal regulation of human corticotrophin releasing hormone gene expression: implications for the stress response and immune/inflammatory reaction. *Endocrine Reviews* 15: 409-420.
- VIJAYAN, M., BALLANTYNE, J., LEATHERLAND, J. 1991. Cortisol induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*. *General and Comparative Endocrinology* 82:476-486.
- VIJAYAN, M., MOON, T. 1992. Acute Handling Stress Alters Hepatic Glycogen Metabolism in Food-Deprived Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 49, 11:2260-2266.
- VIJAYAN, M., PEREIRA, C., MOON, T. 1994. Hormonal stimulation of hepatocyte metabolism in rainbow trout following an acute handling stress. *Comparative Biochemical Physiology* 108C (3): 321-329.
- WEDEMEYER, G. 1976. Physiological responses of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to handling and crowding stress in intensive fish culture. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 33, 2699-2702.
- WELTZIEN, F., ANDERSON, E., ANDERSEN, O., SHALCHIAN-TABRIZI, K., NORBERG, B. 2004 The brain-pituitary-gonad axis in male teleost, with special emphasis on flatfish (*Pleuronectiformes*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 137:447-477.
- WENDELAAR BONGA, S. 1997 The stress response in fish. *Physiological Review* 77, 3:591-625.
- WELLS, R., TETENS, V., DEVRIES, A. 1984. Recovery from stress following capture and anesthesia of antarctic fish: haematology and blood chemistry. *Journal of Fish Biology* 25, 567-576.
- WEYTS, F., COHEN, N., FLIK, G., VERBURG-VAN, KEMENADE, B. 1999. Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. *Fish and Shellfish Immunology* 9: 1-20.
- WILCKENS, T., de RIJK, R. 1997. Glucocorticoids and immune function: unknown dimensions and new frontiers. *Immunology Today* 18, 9.

- WILSON, D., ERECINSKA, M.; SCHRAMM, V. 1983. Evaluation of the relationship between the intra and extramitochondrial [ATP]/[ADP] ratios using phosphoenolpyruvate carboxykinase. *Journal of Biological Chemistry* 258: 10464-10473.
- YANG, C., ALBRIGHT, L. 1995. Elevation of plasma cortisol and hypertrophic response of inter-renal and chromaffin tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the harmful diatom *Chaetoceros concavicornis*. *Journal of Fish Diseases*, 18:165-174.