

# NEUROENDOCRINOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS EN PECES

Por

Lilian M. Barandica C.\* & Luis Tort B.

## Resumen

**Barandica C., L.M. & L. Tort B.:** Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(123): 267-284, 2008. ISSN 0370-3908.

En los peces, al igual que en los mamíferos, se ha visto una íntima comunicación entre los sistemas nervioso, endocrino e inmune. Esta comunicación bi-direccional es posible gracias a que las señales moleculares sintetizadas por células y tejidos de los tres sistemas son similares y en algún caso idénticas. Esta estrecha interrelación es fundamental, entre otras cosas, para hacer frente de manera coordinada y eficaz a las situaciones de estrés. El estrés se puede definir como cualquier situación que somete al organismo a unas condiciones fuera del rango fisiológico estable o normal (enfermedades, cambios extremos en las condiciones medio ambientales, etc.). El conjunto de cambios en los tres sistemas orgánicos que genera la situación de estrés como respuesta a dicha situación se conoce genéricamente como síndrome de adaptación general (SAG). Las situaciones de estrés en los peces y los mamíferos guardan gran similitud, aunque existen diferencias en cuanto a los órganos implicados y el tiempo de respuesta, siendo éste un factor importante para la recuperación de la homeostasis. Los parámetros utilizados para identificar los peces estresados son los relacionados con las diferentes fases de la respuesta al estrés: respuesta primaria (adrenalina y cortisol), secundaria (glucosa, lactato y iones del plasma) y las proteínas de fase aguda (APP); además de indicadores inmunes como los indicadores fagocíticos, las enzimas líticas del sistema alternativo del complemento, las aglutininas y los precipitinas (opsoninas, sobre todo lectinas), los anticuerpos naturales, las citoquinas, los quimiocinas y los péptidos anti-bacterianos. Todo ello cobra gran relevancia desde el punto de vista económico, por cuanto la producción industrial de recursos pesqueros (piscifactorías) muestra cada vez mayor importancia económica en todo el mundo debido al crecimiento de su demanda y a la creciente calidad del producto comercial.

**Palabras clave:** peces, cortisol, estrés, catecolaminas, hormonas.

<sup>1</sup> Departamento de Biología Celular y Fisiología, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España.

\* Autor de correspondencia: Lilianmilena.barandica@uab.es (L.Barandica)

### Abstract

In fish, like in mammals, an intimate communication between the nervous, endocrine and immune systems has been observed. This bidirectional communication is possible thanks to the molecular signals synthesized by cells and tissues of the three systems are similar or in some cases identical. This intimate interrelation is fundamental, among other factors to cope, in coordinated and effective manner, with the stress situations. Stress can be defined as any situation that puts the organism under the conditions outside the stable or normal physiological range (extreme diseases, changes in the environmental conditions, etc.). The changes in the three regulatory systems that the stress situation generates as a response to this situation is known generically as the general adaptation syndrome (GAS). The stress situations in fish and the mammals keep great similarities, although there exist differences in terms of the organs involved and the response time, being this, an important factor for the recovery of the homeostasis. The parameters used to identify a stressed fish are the ones related to the different response phases after stress: primary response (adrenalin and cortisol), secondary (glucose, lactate and ions of the plasma) and the proteins of acute phase (APP). In addition, immune parameters like phagocytosis indicators, lytic enzymes of the alternative system of the complement, the agglutinines and precipitines (opsonines, mainly lectines), the natural antibodies, the anti-bacterial cytokines, chemokines and peptides, may be indicative of stress episodes. All of it shows great relevance from the economic point of view, inasmuch as the industrial production of fishing resources (fish farms) anywhere in the world shows greater economic importance due to the growth of their demand and to the increasing quality of the commercial product.

**Key words:** fish, cortisol, stress, catecholamines, hormones.

### Introducción

La inmuno-fisiología es la disciplina que investiga las interacciones del sistema inmune con los otros sistemas fisiológicos. Los organismos requieren una buena comunicación entre sus sistemas inmune, nervioso y endocrino para responder adecuadamente a los cambios en su ambiente. En este sentido se comprueba la existencia de un importante número de interconexiones, constituyendo una compleja red de transmisores entre los tres sistemas (Tort, 1998). Esta comunicación bidireccional es posible gracias a que las señales moleculares sintetizadas por células y tejidos de los tres sistemas son similares o idénticas (Baigent 2001/5; Turnbull and Rivier, 1999), por ello se dice que hablan el mismo lenguaje bioquímico. Dicha comunicación involucra una compleja red de señales, cuyos mensajeros (hormonas y citocinas de los sistemas neuroendocrinos e inmune) parecen interactuar en íntima colaboración (Engelsma, *et al.* 2002).

Esta intercomunicación es determinante en los cambios psicológicos y fisiológicos necesarios para que el organismo pueda dar una respuesta adecuada a las variaciones ambientales y mantener así su homeostasis (Engelsma, *et al.* 2002).

En los vertebrados en general, se ha llamado a este proceso de ajuste continuo de su fisiología a los cambios en el medio ambiente o **estrés ambiental** (“respuestas de adaptación”) como homeostasia, que tiene lugar por medio de un repertorio de respuestas fisiológicas, endocrinas e inmunológicas que les permiten, hacer frente a los cambios físicos, químicos y biológicos (Flik, *et al.* 2006/3). En el caso de los animales y los humanos sometidos a estrés ambiental, coinciden igualmente los cambios de su comportamiento además de los de su fisiología (Flik, *et al.* 2006/3).

En el caso concreto de los peces, fueron los primeros vertebrados en desarrollar una respuesta al estrés, que incluye, interrelaciones entre los ejes relacionados con el sistema nervioso y el sistema endocrino (Engelsma, *et al.* 2002; Flik, *et al.* 2006/3).

En peces teleósteos se conoce el efecto neuro-endocrino en el sistema inmune (Harris and Bird 2000; Weyts, *et al.* 1999/1). Sin embargo se conoce poco acerca de las señales de las células inmunes hacia el sistema neuroendocrino en peces. Aunque el rápido descubrimiento de las secuencias de las citocinas, ha hecho posible investigar esta interacción (Engelsma, *et al.* 2002).

Las investigaciones sobre la fisiología del estrés se basaron en los trabajos de Canon (**Cannon, 1929**) que describió los cambios en las funciones corporales durante “las situaciones que estimulan las emociones”: aumento del ritmo cardiaco, ritmo respiratorio, presión sanguínea y azúcar en la sangre, como la disminución de la función gástrica e intestinal, atribuidas por el incremento de la actividad del sistema nervioso simpático. Además, Canon concluye que todos estos efectos sirven para aumentar la capacidad de un individuo a reaccionar activamente a situaciones críticas, para preparar “la lucha o la huida”.

Pocos términos son tan frecuentemente utilizados en biología, medicina, psicología y sociología como “estrés”. La definición ha cambiado a lo largo de la historia (**Engel, 1998; Levine, 1991; Selye, 1950**). El endocrinólogo Hans Selye, introdujo el término estrés y estresor dentro de la investigación biomédica; señaló que frente a cualquier agente agresor al organismo, se producen simultáneamente una serie de reacciones típicas, en función del estímulo agresor (estresor), y otras reacciones atípicas (siempre las mismas), independientemente de la naturaleza de los estímulos. Estas reacciones suponen: aumento de la actividad suprarrenal, atrofia del sistema metabólico de las grasas; otras tales como pérdida o aumento del peso y aumento del cortisol en sangre, etc. Así como incremento de la actividad del córtex adrenal, dato particularmente importante.

El síndrome de adaptación general (GAS, en inglés) engloba los cambios que se producen como respuesta al “estrés” ambiental (**Roberts Ronald J. 1981**). Este conjunto de manifestaciones atípicas reciben diferentes nombres: Síndrome de Estrés, o también Ley de Selye. El GAS tiene distintas etapas según la duración del agente estresante: a)

reacción de alarma inicial, b) fase de resistencia, y c) fase de agotamiento (**Cannon, 1929; Maule, et al. 1989; Roberts Ronald J. 1981**). En la Tabla 1, se enumeran las características más importantes del síndrome de adaptación general.

Así que, el estrés se puede definir como una situación en la cual el equilibrio homeostático es modificado como consecuencia de la acción de un estímulo (intrínseco o extrínseco) al animal, denominado agente estresante. El animal responde mediante una serie de reacciones de comportamiento y/o fisiológicas con objeto de compensar y/o adaptarse a la nueva situación (**Overli, et al. 2001; Overli, et al. 2004; Wendelaar Bonga, 1997**).

### 1. Estrés y la activación del sistema de respuesta

En los vertebrados superiores (mamíferos) el conjunto de sistemas orgánicos interrelacionados implicados en la respuesta a las situaciones de estrés se denomina eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA).

El eje HPA se denomina en los peces eje hipotálamo-pituitario-interrenal (HPI), ya que los peces no poseen una glándula adrenal como tal, sino un conjunto difuso de células interrenales. El término “eje del estrés” se ha utilizado en los peces debido a la clara interacción entre los estímulos al estrés y las funciones de las células del eje HPI (**Weyts, et al. 1999/1**).

Además, en los peces existe un segundo eje fisiológico implicado en el conjunto de la respuesta a los factores estresantes: el eje Hipotálamo Simpático Cromafin (HSC). Los estresores son primero percibidos por los sensores del sistema nervioso central (CNS, en inglés), específicamente en el hipotálamo donde los dos grandes ejes

**Tabla 1.** Síndrome de adaptación general o ley de Seyle 1963.

Reacción de alarma inicial	Fase de resistencia	Fase de agotamiento
<p>La primera reacción del animal, es intentar huir o enfrentar el peligro, lo cual activa un amplio rango de funciones fisiológicas:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Activación motora, ritmo cardiaco, flujo sanguíneo hacia los órganos más activos: cerebro corazón y músculos esqueléticos.</li> <li>2. Flujo sanguíneo hacia las branquias y estímulo de la captación de oxígeno.</li> <li>3. Aumento de la tasa metabólica basal e intermedia</li> </ol>	<p>Continúa el estrés, el animal trata de adaptarse a la nueva situación y los niveles de las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) volverían a valores normales y se libera el cortisol.</p>	<p>Se mantiene la situación de estrés y los niveles de cortisol durante un largo período y la activación del metabolismo interfieren con los demás procesos fisiológicos y pueden llegar a ser letales para el animal.</p>

reguladores son estimulados: el eje Hipotálamo Simpático Cromafin (HSC) y el eje Hipotálamo-Pituitario-Interrenal (HPI) (Weyts, *et al.* 1999/1).

En el eje HSC, la síntesis y liberación de las CA (adrenalina A, noradrenalina NA) en la circulación, está estimulada por las fibras colinérgicas del sistema simpático y un leve aumento tardío (retraso en minutos) de la liberación de las hormonas glucocorticoides (GC). Los somas de estas neuronas se encuentran en centros neuronales del hipotálamo anterior y medial.

Las catecolaminas (CA) son liberadas de la médula adrenal en los mamíferos; en los peces teleósteos el principal origen de las CA circulantes son las células cromafin dispuestas en la pared de la vena cardinal posterior en la región del riñón anterior (Nilsson, 1984; Reid, Bernier and Perry 1998/7/1) y activa varias respuestas cardiovasculares, respiratoria y metabólica dirigidas a aliviar los efectos perjudiciales asociados con los estresores agudos (Perry, *et al.* 2004).

La primera hormona en el eje HPI es la hormona liberadora de la corticotropina (CRH, en inglés), liberada por las neuronas hipotalámicas de la región pre-óptica. La CRH se ha encontrado en peces, con la hormona liberadora de la tiroides (TRH, en inglés) (Pepels, Peter P L M., *et al.* 2002). La TRH y la CRH estimulan la liberación de la ACTH, en inglés) de la pituitaria, a inducir la producción y liberación del mayor esteroide estresor (cortisol), por las células interrenales (Mommsen, Vijayan and Moon 1999; Pepels, Peter P L M., *et al.* 2002; Pickering, *et al.* 1991; Pottinger, Balm and Pickering 1995; Wendelaar Bonga 1997). Además 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, Vijayan and Moon 1999).

Los teleósteos no poseen un sistema portal y las células corticotrópicas de la adenohipófisis son directamente innervadas por axones del hipotálamo, regulando la liberación de la hormona adrenocorticotropina (ACTH) (Rotlant, *et al.* 2003; Rotlant, *et al.* 2003).

El cortisol sintetizado en las células interrenales, localizadas también en el riñón anterior o pronefrítico en los peces es un órgano mixto, compuesto por elementos hematopoyéticos, reticulo-endoteliales, endocrinos y excretorios, que participan en la osmo-regulación, hematopoyesis, inmunidad, metabolismo endocrino y excreción (Matty, 1985); a pesar de su sencillez aparente en el riñón se localizan las glándulas interrenales, las células cromafines, los folículos tiroideos, y una red vascular y

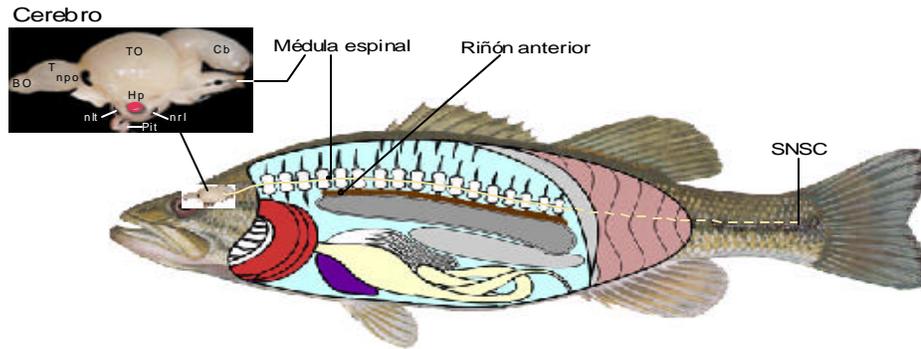
nerviosa amplia. Esta ubicación no es aleatoria, revelándose la importante relación entre los tres sistemas, existente en las especies filogenéticamente más antiguas.

Avances recientes en el campo de la fisiología comparativa del estrés sugieren, que el factor liberador de la corticotropina (CRF, en inglés) juega un papel clave en la regulación e integración de los sistemas neuroendocrino, autonómico, inmune y del comportamiento como respuesta a estresores (Crespi and Denver 2004; Heinrichs and Koob 2004; Lovejoy and Jahan 2006/3; Volkoff, *et al.* 2005). Su aumento provoca la liberación de otras hormonas como las endorfinas y los péptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC, en inglés) (Matteri and Becker 1994/4). Tanto ACTH como endorfinas y melanotrofinas derivan de un precursor común, la POMC, y son sintetizados por dos tipos celulares: células corticotropas, 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, en inglés) y ?-endorfinas, son los principales productos secretados por células melanotropas, localizadas en la parte intermedia de la glándula.

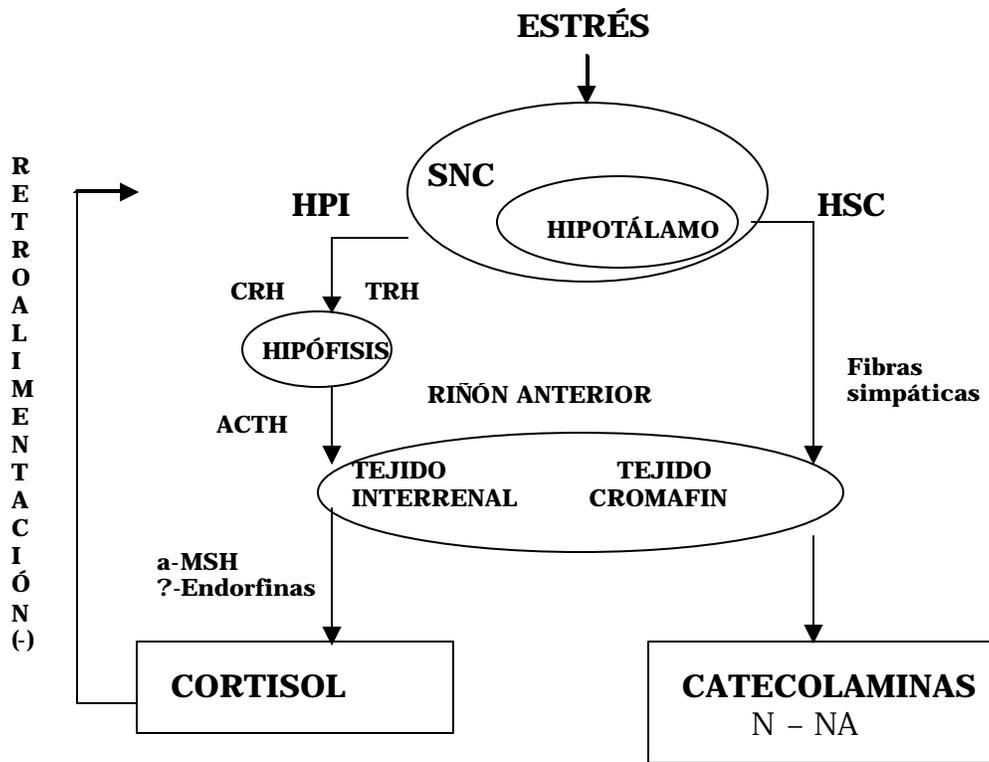
La presencia de estos tipos celulares posibilitaría que diferentes tipos de estrés actúen sobre una u otra célula, secretándose hormonas específicas para cada caso, originando respuestas (Pepels, Peter P L M. and Balm 2004; Rotlant, *et al.* 2000b). Un gran número de citocinas son ahora conocidas por interactuar con el eje HPA en mamíferos y las células que son parte integral del sistema nervioso también producen citocinas que originalmente se pensó que eran sólo producidas por las células del sistema inmune (Weyts, *et al.* 1998). Las citocinas proinflamatorias interleucina (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF-?, en inglés) e IL-6, son consideradas las principales efectoras en esta comunicación entre el sistema inmune y el eje HPA en mamíferos (Engelsma, *et al.* 2003). En las Figuras 1 y 2 se observa el conjunto de órganos implicados en los dos ejes reguladores descritos (Overli, *et al.* 2001; Reid, Bernier and Perry 1998/7/1) y un esquema del funcionamiento de estos ejes (según la explicación del texto) (Tort, 1998).

#### *Respuestas primaria, secundaria y terciaria al estrés*

El alcance y la dinámica de la respuesta al estrés puede ser fuertemente influenciada por el estado de desarrollo del animal, la gravedad y la duración del estresor, entre otros factores (Maule and Schreck 1991; Barton, *et al.* 1998/5). Por ejemplo los factores de la respuesta primaria y secundaria al estrés, pueden manifestar diferentes patrones entre peces maduros o inmaduros expuestos a algún



**Figura 1.** Esquema de la anatomía interna de un pez teleosteo (lubina *Dicentrarchus labrax*) mostrando los principales órganos implicados en los ejes neuroendocrinos Hipotálamo-Hipófisis-Interrenal (HPI) y Hipotálamo-Simpático-Cromafín (HSC). Abreviaturas: BO: bulbo olfativo, Cb: Cerebelo, Hp: Hipotálamo, nlt: *nucleus laterales tuberos*; npo: *nucleus preopticus*; nrl: *nucleus recessis lateralis*; Pit: Pituitaria o Hipófisis; SNSC: sistema neurosecretor caudal (neurohipófisis), T: telencéfalo, TO: tectum óptico (Adaptado de Bernier 2006/3; kentuckylake.com 2007).



**Figura 2.** Esquema de la relación existente en la respuesta a un estímulo estresante (Tort 1998).

estrés generalizado (Carragher, *et al.* 1989; Slater, Fitzpatrick and Schreck 1995/11/15). En el análisis de las respuestas fisiológicas al estrés en los animales, se distinguen tres tipos de respuestas según los diferentes niveles de organización biológica (Wendelaar Bonga, 1997).

Respuesta primaria. Consiste en la activación de los núcleos cerebrales, células adenohipofisarias, tejido interrenal y cromafín, con un incremento en los niveles de catecolaminas y corticosteroides adrenales en plasma.

Respuesta secundaria. Considerada como las modificaciones fisiológicas originadas por las catecolaminas y corticosteroides: aumento del consumo de oxígeno, actividad cardíaca, hiperglucemia, perturbaciones del equilibrio hidromineral, etc.

Respuesta terciaria. Se extienden al nivel de organismo y la población: inhibición del crecimiento, problemas en la reproducción, perturbación del sistema inmune y disminución de la tolerancia a nuevas situaciones de estrés (Arends, *et al.* 1999; Mommsen, Vijayan and Moon 1999; Moon, *et al.* 1999). Los procesos involucrados en los sistemas de coordinación de las respuestas fisiológicas y del comportamiento, pueden ser compensadas y/o adaptadas permitiendo al animal superar la amenaza. Sin embargo, en algunas ocasiones la respuesta al estrés puede perder su valor adaptativo, pudiendo afectar la inhibición del creci-

miento, características reproductivas e inmuno-supresión (Wendelaar Bonga, 1997; Weyts, *et al.* 1998). Como se muestra en la Figura 3.

### 2. Estresores

La respuesta al estrés es un proceso que demanda energía (Davis and Schreck, 1997; Schreck, 1982/6). Durante ella, un organismo puede tener menos energía disponible destinada para otras funciones vitales, comprometiéndolas, temporal o permanentemente (Barton, *et al.* 1998/5).

Las respuestas al estrés son de diferente duración dependiendo de los estresores y de los indicadores medidos; el tiempo es un factor importante para la recuperación de la homeostasis. La duración del estresor influencia significativamente el estado fisiológico total. Los estresores agudos involucran rápidos y altos niveles de

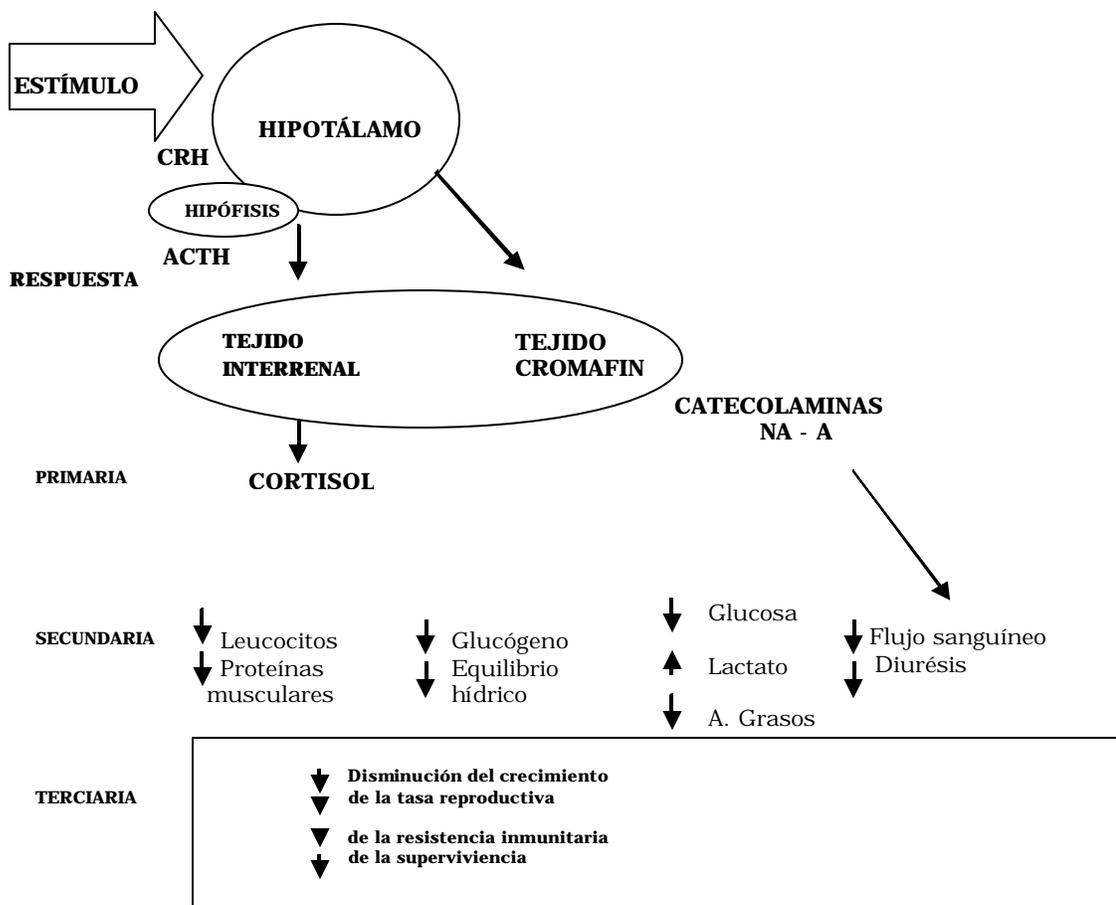


Figura 3. Tipos de respuestas fisiológicas a estrés desde el punto de vista de los niveles de organización biológica (Tort 1998).

secreciones, seguido una recuperación a las pocas horas después de la inducción, siendo por ello los costos de estos episodios de estrés reducidos. Por el contrario en los casos de estresores crónicos o repetitivos son más constantes niveles de esteroides secretados, que involucran frecuentemente largos períodos de recuperación, mayor coste energético y de funcionamiento, debido a la persistencia del estresor y al efecto derivado de la respuesta del estrés al estresor.

Se han identificado numerosos estresores que afectan a los peces. Estos incluyen los cambios físicos extremos del medio ambiente (por ejemplo temperatura, salinidad y turbidez), interacción animal (por ejemplo prelación, parasitismo, competición por espacio, alimentación, parejas sexuales), interferencia humana (incluyendo prácticas acuícolas, por ejemplo, captura y manejo, transporte, anestesia) y aguas contaminadas (por ejemplo, pH bajo, alta armonía, metales pesados y metales pesados) (Bly, Quiniou and Clem 1997; Gerwick, Demers and Bayne 1999; Iwama 1991; Mazon, *et al.* 2004; Weyts, *et al.* 1998). La exposición química aumenta hasta tres veces la respuesta integrada al estrés y puede causar inmunosupresión e inmunocompetencia (Wendelaar Bonga, 1997).

Numerosos estresores son conocidos por iniciar la secreción de las CA en peces, provocando varias alteraciones fisiológicas como anoxia, anemia acidosis, ejercicio exhaustivo y perturbación física (Nakano and Tomlinso N., 1967; Ristori and Laurent 1985). Una gran variedad de condiciones tales como la polución, el estrés nutricional y físico, la influencia hormonal puede modificar todo los niveles de almacenamiento de las CA en el tejido cromafín (Reid, Bernier and Perry 1998/7/1).

La anorexia es una respuesta característica en peces sometidos a diversos agentes infecciosos virales, bacteriales y parásitos; al ingerir menos alimentos como consecuencia de la infección, se ven afectados sus mecanismos de defensa (Bernier 2006/3).

Existen también otros efectos en el comportamiento, por ejemplo: un animal en repetidas ocasiones sujeto a acciones agresivas por un individuo dominante, mostrará casi inevitablemente un comportamiento fuertemente inhibido, con la tendencia a reducir la competencia por el alimento, compañeras reproductivas o espacios territoriales como principales características (Maule and Schreck, 1991; Overli, *et al.* 2004; Sloman, Montpetit and Gilmour 2002).

Asimismo, cuando un animal es amenazado inesperadamente por un predador, detendrá precipitadamente su alimentación e intentará escapar, pero incluso, si se esca-

pa no comenzará a comer de nuevo inmediatamente después que el predador se ha ido (Bernier and Peter 2001; Berthoud 2002; Bernier 2006/3; Munkittrick, *et al.* 1991/6; Volkoff, *et al.* 2005).

En mamíferos la derrota social, induce cambios del comportamiento y elevación crónica de glucocorticoides en el plasma, así como alteraciones neuroquímicas en el cerebro de poiquiloterms (Korzan, *et al.* 2002; Summers, *et al.* 2005). La hipótesis es que este tipo de comportamiento agresivo hacia otros, es un reductor de estrés; copiando la estrategia sufrida después de una derrota y generalmente contra individuos de menor tamaño (Overli, *et al.* 2004; Summers, *et al.* 2005).

### 3. Indicadores de estrés

#### 3.1. Indicadores neuroendocrinos (adrenalina y cortisol)

Los parámetros utilizados para identificar los peces estresados son los denominados de respuesta primaria, es decir, indicadores neuroendocrinos como la adrenalina y el cortisol, que son inductores de cambios rápidos a nivel cardiovascular y metabólico. El cortisol está más relacionado con los estresores crónicos, como parte final del eje HPI (Tort, Balasch and MacKenzie 2005).

#### 3.2. Proteínas de choque térmico (HSP)

Actualmente se estudian otros parámetros como indicadores más rápidos, por ejemplo las Proteínas de Choque Térmico (HSP, en inglés), una familia de proteínas de bajo peso molecular que son inducidas en mamíferos y peces después de situaciones de estrés (Abukhalaf, *et al.* 1994; Iwama, *et al.* 1998), estas proteínas son esenciales para la activación de los receptores hormonales del núcleo e interactúan con las señales moleculares del ciclo celular y de la vía de muerte celular (Harris and Bird 2000). Las HSPs están implicadas en uno de los mecanismos más importantes para prevenir y reparar los efectos nocivos de los estresores proteo-tóxicos tales como la alta temperatura y juegan un papel relevante en la termo-tolerancia (Feige, Morimoto and Yahara 1996). También están implicadas en la respuesta al estrés por contaminantes, manipulación excesiva o cambios bruscos medio ambientales (Vijayan, *et al.* 1997). Otras proteínas como las metalotioneínas que son inducidas después de situaciones de estrés también pueden intervenir en relación a la protección de la oxidación tisular (Tort, *et al.* 1996).

#### 3.3. Proteínas de fase aguda (APP)

Otra posibilidad de indicadores rápidos son las proteínas de fase aguda La primera línea de defensa contra los

agentes ambientales es una serie de proteínas en la circulación y las membranas mucosas, que protegen de los patógenos en procesos asociados con la infección o el trauma químico. La liberación de estas proteínas, denominadas también reactantes principales de fase aguda, forma parte de la respuesta de fase aguda (APR, en inglés) de la inflamación. Su concentración puede aumentar de 100-1000 veces sobre el nivel basal. La liberación de las APR, desencadena un amplio rango de cambios fisiológicos y metabólicos iniciados como respuesta inmediata a una infección, trauma o daño tisular (**Macintyre, Schultz and Kushner, 1983**). Este proceso involucra la modulación de la función inmune y la regulación del sistema cardiovascular, SNC, sistema nervioso periférico (Steel and **Whitehead, 1994/2**) produciendo somnolencia, fiebre y anorexia; involucran también los sistemas: hepático, músculo-esquelético y hematopoyético (**Kushner, 1993**). El incremento de la concentración sérica de las APP es medible a las 4-6 horas de la agresión tisular, su vida biológica es rápida (de 8 -12 horas).

Dos de las APP más conocidas son la proteína C reactiva (CRP, en inglés) y la proteína sérica amiloide (SAP, en inglés). Las dos son pentraxinas multifuncionales con capacidad para unirse al Calcio. La CRP descubierta en los años 30 en el suero humano debe su nombre a la reacción con el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae* (CPS, en inglés). Desde entonces se ha encontrado en muchas especies (**Nakanishi, et al. 1991; Magnadóttir 2006/2**).

En los peces, la presencia de la CRP es conocida en platija *Pleuronectes platessa L.*, y trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, Lumpo *Cyclopterus lumpus*, gato de río *Ictalurus punctatus Rafinesque*, salmon Atlántico *Salmo salar L.*, bacalao *Gadus morhua*, mero *Hippoglossus hippoglossus*, pez lobo *Anarhichas lupus*, y pintarroja *Mustelus canis* (**Bayne and Gerwick 2001; Lund and Olafsen 1998/4/1**). Además la SAP unida a pentraxinas del salmón Atlántico *Salmo salar L.* y trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* ha sido clonada y secuenciada y se mostró una homología del 38 a 40% del humano para CRP y SAP respectivamente. Y un porcentaje de 95 y 86 en la N-Terminal identificada de la proteína aislada del salmón Atlántico *Salmo salar L.* (**Lund and Olafsen 1998/4/1**).

Las CRP tienen un papel biológico importante como la interacción con la fosfatidilcolina en tejidos inflamados y en la activación del sistema inmune (**Kodama, et al. 2004; Liu, et al. 2004**), uniéndose a materiales autógenos y exógenos nocivos como componentes nucleares (**Edagawa,**

**et al. 1993; Magnadóttir 2006/2**). La CRP se cree por lo tanto es importante en la defensa innata del huésped especialmente en vertebrados inferiores ya que la CRP es evolutivamente conservada en vertebrados e invertebrados y tienen un rango amplio de propiedades. La SAP tiene afinidad con la fosforiletalonamina, se une también al LPS de las bacterias Gram positivas (**Lund and Olafsen 1998/4/1; Lund and Olafsen 1999/1/2**).

El nivel de las pentraxinas es normalmente alto en los peces cuando se compara con los mamíferos y puede elevarse o no durante APR (**Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Se considera que las pentraxinas juegan un importante papel en la función inmune demostrándose que pueden iniciar la clásica cascada del complemento (**Cook, et al. 2003/0**). La unión CRP-CPS o APS puede activar el sistema del complemento y suprimir el crecimiento bacteriano en trucha arco iris (**Nakanishi, et al. 1991**).

### 3.4. Índices metabólicos de respuesta secundaria

Otros indicadores utilizados son los índices metabólicos de respuesta secundaria a estrés midiendo los niveles de glucosa, de lactato y los iones del plasma (**Rotllant and Tort 1997; Rotllant, et al. 2000a; Sunyer and Tort 1995**). Debido a que se produce su incremento en situaciones de estrés debido a una mayor movilización energética y metabólica (**Rotllant and Tort 1997; Rotllant, et al. 2000a; Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Los parámetros hematológicos y metabólicos en sangre (**Rotllant and Tort 1997; Sunyer and Tort 1995; Tort, Balasch and MacKenzie 2005; Tort, et al. 1996**), son herramientas para medir la fase de resistencia ya que responden a la acción del cortisol y las CA. Estos indicadores fisiológicos generales se miden en sangre y plasma. El lactato y la glucosa en el plasma son útiles indicadores metabólicos y energéticos del estrés (**Tort and Hernandez Pascual 1990; Tort, Gonzalez Arch and Balasch 1994; Tort, et al. 1991**). El estrés aumenta los niveles de glucosa liberando las reservas de glúcidos en corto tiempo. A largo plazo, el estrés puede contribuir al incremento de los niveles de glucosa y a la disminución de las reservas de glucógeno, rompiéndose entonces la glucosa y liberándola en la sangre. El lactato también incrementa sus niveles debido al estrés. En situaciones agudas, se produce una demanda de energía y la vía anaerobia que produce el lactato es rápidamente disponible. Sin embargo, los estresores crónicos y los de poca intensidad no inducen cambios en el lactato. La osmolalidad en el plasma y el balance en los niveles de iones, son indicadores plasmáticos también modificados por las CA y el cortisol (**Rotllant, et al. 2000a; Tort and Hernandez**

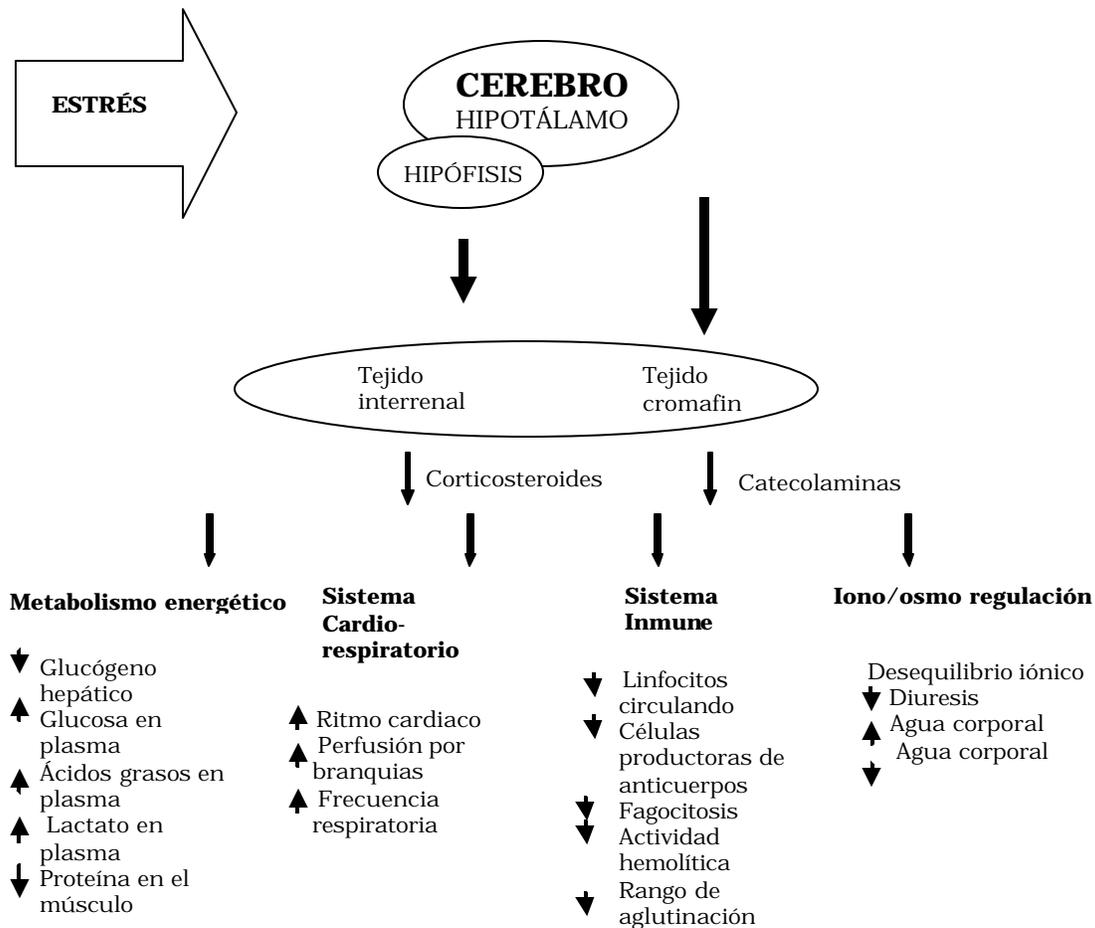
Pascual 1990; Tort, Gonzalez Arch and Balasch 1994; Tort, et al. 1991).

La adrenalina produce desequilibrio en los iones y los niveles del agua produciendo hinchamiento de las células sanguíneas (Nikinmaa and Soivio 1982; Nikinmaa, Soivio and Railo 1981), modificando el número y tamaño de las células y el valor hematocrito, demanda oxígeno, especialmente en estrés agudo, durante el cual se observan cambios significativos en los valores hematológicos o en el número de glóbulos rojos. Mientras el cortisol actúa en el tejido branquial modifica el flujo de los iones a través del agua. En la figura 4 se muestra detalladamente la activación de la respuesta secundaria como resultado de la activación por el estrés de la respuesta primaria.

#### 4. Indicadores inmunes del estrés

Las situaciones de estrés alteran gran número de parámetros inmunes, pero existen dificultades para identificar los más adecuados debido a la falta de conocimiento de los mecanismos involucrados en la respuesta al estrés en los peces en comparación con lo que se conoce en vertebrados superiores.

Los peces son organismos poiquiloterms y de medio acuático, por lo que necesitan adaptarse a grandes cambios ambientales de temperatura, niveles de oxígeno, salinidad etc. Por esto su sistema inmune debe actuar rápida, eficientemente y con un amplio rango de antígenos. Además, el hecho de vivir en un medio acuático los expone a gran cantidad de patógenos. Por lo tanto, un buen



**Figura 4.** Respuesta secundaria al estrés, donde se observa cómo afecta la actividad y fisiología de los sistemas neuroendocrino, cardio-respiratorio e inmune y el metabolismo y la regulación corporal, razón para ser utilizados como indicadores (Tort, 1998).

indicador en peces es aquel que representa la respuesta inmune, es decir que responde a un amplio rango de antígenos, que sea eficiente y potente en corto período de tiempo (**Magnadóttir** 2006/2).

Los peces dependen de la respuesta inmunitaria innata, un conjunto de mecanismos que parece que juegan un papel mucho más importante en peces que en los vertebrados superiores. En otros vertebrados estas respuestas las realizan, la inmunidad celular adaptativa o las moléculas de plasma o suero, siendo específicas o no específicas (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005).

En los peces, la respuesta inmune central es no específica. Se ha demostrado que la parte más importante de la respuesta inmune se centra en la respuesta fagocítica. Dicha actividad fagocítica puede ser detectada por los indicadores de la reacción de explosión respiratoria donde se mide la producción de radicales libres de oxígeno. Durante esta reacción las células incrementan el consumo de oxígeno y los intermediarios reactivos del oxígeno (IROS, en inglés). Esta respuesta también es detectable por los indicadores fagocíticos como la reducción del *Nitro-Blue Tetrazolium* (NBT) causado por los radicales libres del oxígeno, la adherencia celular o la capacidad de fagocitar partículas de los macrófagos (**Secombes, Hardie and Daniels** 1996/5).

Otros indicadores pueden ser derivados de los cambios celulares inducidos por el estrés, ya que en condiciones de estrés se modifica el número y la distribución de células blancas. Sin embargo, no hay suficientes estudios que muestren un panorama completo de estos parámetros por ejemplo, el número de células (leucocitos o linfocitos) en la sangre y en los órganos linfoides

(bazo, riñón anterior y timo) (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005).

Las inmunoglobulinas (Igs) de los peces están menos desarrolladas que en los grandes vertebrados. Así, las formas de Igs en los peces son muy reducidas en comparación a los grandes vertebrados, el poder de la respuesta es bajo y la respuesta de la memoria secundaria es muy reducida en potencia y rapidez en el tiempo (requiere un período de 3-5 semanas para desarrollar la máxima respuesta). Por el contrario, otras respuestas son buenas, como las del sistema alternativo del complemento, en peces sus propiedades líticas son 10 veces mayores que en mamíferos y este sistema está activo a un amplio rango de temperaturas y pH (**Sunyer and Tort** 1995).

Nuevas investigaciones han mostrado la relación entre el aumento de condiciones de potencia y una gran variabilidad para las proteínas del sistema del complemento y disminuyendo las condiciones de las proteínas Igs en vertebrados inferiores. La relación inversa se ha observado en vertebrados superiores (**Sunyer, Tort and Lambris** 1997). Otro sistema no específico más eficiente en los peces que en los vertebrados homeotérmicos es la actividad lisozímica en la sangre, tejidos y piel u otras moléculas en el suero como lectinas o aglutininas (**Mock and Peters** 1990; Tort, *et al.* 1996).

La Tabla 2 muestra los indicadores más utilizados para medir inmuno-competencia no específica en peces (**Anderson**, 1997). Los cambios en las pruebas son siempre herramientas muy útiles para determinar la eficiencia del sistema inmune bajo las condiciones de estudio requeridas. Las pruebas de resistencia a enfermedades con algún patógeno específico u oportunista, indican la capacidad

**Tabla 2.** Indicadores inmunes en peces. Agentes y localización en el cuerpo (Tort, 1998).

Indicador	Unidades	Agente	Localización
Complemento (alternativo)	ACTH unit/mL	Proteínas C3	Suero
Complemento (Clásico)	CH50 unit/mL	Proteínas del suero + anticuerpo	Suero
Aglutinación	Títulos	Ig + Lectinas	Suero
Lisozima	Títulos	Lisozima	Moco, Suero
Reducción NBT	Absorbancia	Macrófagos	Sangre
Explosión respiratoria	Absorbancia	Macrófagos	Riñón anterior
Adherencia de WBC	Porcentaje	Macrófagos	Riñón anterior
Linfocitos circulantes	1000/ $\mu$ L	Linfocitos	Sangre
Quimioluminiscencia	Centelleo	Macrófagos	Linfocitos
Proliferación celular		Linfocitos	Tejido linfoide
Células formadoras de placas	Pfu/mL	Linfocitos	Tejido linfoide
Cantidad diferencial de WBC	Fórmula	Células sanguíneas	Sangre

del sistema inmune de vencer los cambios (Tort, Balasch and MacKenzie 2005).

### 5. Inmunosupresión inducida por estrés

Como se ha comentado, las situaciones de estrés, tienen consecuencias no sólo a nivel energético y metabólico sino que además son supresoras potentes de las funciones fisiológicas y dependen del tiempo de exposición al supresor. El estudio de estresores tales como, captura, hacinamiento o dietas deficientes pueden afectar la homeostasis en general de los animales, y en concreto del sistema inmune, como puede ponerse de manifiesto estudiando algunos indicadores inmunes la función de los algunos indicadores en dorada *Sparus aurata*. En la Tabla 3, se muestran algunos de estos indicadores.

Existen múltiples y variados estudios sobre los efectos de los estresores en el sistema inmune de los peces, relacionados con los cambios ambientales (estados reproductivos, características del agua), la presencia de productos químicos en el agua y con los procedimientos de cultivo. La mayoría de las investigaciones demuestran que el estrés produce inmunosupresión, pero la prolongación de sus efectos es muy variable y depende de muchos factores claves. La naturaleza de la respuesta está relacionada con el estresor: dependiendo de su tipo, intensidad, persistencia y duración de la exposición (tiempo) generando diferentes respuestas. La respuesta del organismo de-

pende del particular indicador medido y la localización en el cuerpo (sangre, órganos o tejidos periféricos) y el estado del pez (Acerete, *et al.* 2004; Altimiras, *et al.* 1994; Barton, *et al.* 2005; Montero, *et al.* 1999; Rotllant and Tort 1997; Rotllant, *et al.* 1997).

Durante la primera fase de activación en el caso del estrés agudo (por ejemplo estrés social o confinamiento (Cubero and Molinero 1997; Pickering, *et al.* 1991; Pottinger, Balm and Pickering 1995), las células inmuno-competentes de los tejidos linfoides tales como el riñón anterior, el bazo o el timo pueden mejorar la respuesta proliferativa/mitótica (Demers and Bayne 1997). La asfixia (sostener un pez fuera del agua) produce estrés agudo e incrementa el número de receptores de los leucocitos del bazo y el riñón anterior, disminuyendo la afinidad de estos receptores en el bazo pero no en las células del riñón anterior (Maule and Schreck, 1991).

Sin embargo, otros estresores tales como el transporte o hacinamiento originan una importante disminución de la tasa mitótica (Maule, *et al.* 1989; Mazur and Iwama 1993). Los estresores químicos tales como pesticidas, metales o componentes orgánicos usualmente suprimen la función inmune, pero incrementan los indicadores inmunes y específicamente el índice de fagocitosis (Fries 1986; Roberts, Davies and Pulsford 1995/1; Thuvander, Wichardt and Reitan 1993).

**Tabla 3.** Cambios de algunos indicadores seleccionados después de exposición a diferentes estresores en *Sparus aurata* (Tort, *et al.* 1996).

Indicador	Unidades	Porcentaje de cambio	Tiempo	Estresor
Complemento ACP (hemólisis)	ACTH50 unidad/mL	97,4	24 horas	Captura (agudo, 5 minutos)
		88,9	5 días	Hacinamiento (crónico)
		70,1	16 días	Captura diaria (repetición agudo)
		53,3	2 meses	Deficientes en vitamina E y n-3 HUFAs
		52,1	2 meses	
Actividad de Aglutinación	Títulos	87,9	24 horas	Captura (agudo, 5 minutos)
		64,7	9 días	Hacinamiento (crónico)
		79,5	16 días	Captura diaria (repetición agudo)
Linfocitos Sangre	10 <sup>6</sup> cel/mL	94,7	2 meses	n-3 HUFAs deficientes Captura (agudo, 5 minutos)
		84,4	24 meses	
		70,2	9 días	Hacinamiento (crónico)
		68,7	16 días	Captura diaria (repetición aguda)

Estas discrepancias son probablemente explicadas por las circunstancias en que los indicadores son medidos, por ejemplo en el tiempo transcurrido desde la iniciación del efecto del estresor y la dinámica del mecanismo inmune particular (Tort, 1998). Por lo tanto, numerosos indicadores podrían mostrar incremento cuando el sistema inmune está en la primera fase de reacción contra el cambio. Así, el aumento o disminución del número de linfocitos podría ser registrado dependiendo del lugar donde se toman las muestras (sangre o tejidos linfoides) y el tiempo después de la incursión del estresor. Los índices fagocíticos también son contradictorios dependiendo de las condiciones particulares del experimento. No obstante, parece no haber duda, que un efecto principal es la supresión o mala adaptación y esto podría ser especialmente claro a medio o largo plazo cuando el estresor es crónico o repetitivo (Barton, Iwama and Pickering 1997; Tort, 1998; Tort, *et al.* 1996; Tort, *et al.* 1996).

### 6. Cortisol y sistema inmune

En los vertebrados, las hormonas corticoesteroides (mineralcorticoides MCs, y glucocorticoides GCs) son esenciales para el desarrollo normal, el mantenimiento de la homeostasis basal y los eventos relacionados con el estrés. Regulan una amplia gama de procesos metabólicos y de funciones fisiológicas a través de dos clases de los receptores del corticoesteroide (CR y GR, en inglés). Los GCs ejercen una parte de sus efectos por la vía de difusión a través de la membrana de la célula, ocupando los receptores situados en el citosol, el desplazamiento del complejo del GC-receptor en el núcleo, en combinación con los elementos específicos responsables de GCs presentes en promotores del gen o por interacción con el factor de la transcripción de NF- $\kappa$ B (Cupps and Fauci 1982; McKay and Cidlowski 1999) induciendo o reprimiendo la transcripción que conduce a la función biológica (Cupps and Fauci 1982).

El indicador de estrés de uso más común en peces es la concentración del cortisol. Existen numerosos y variados datos en plasma, por su fácil accesibilidad experimental:

1. El cortisol puede medirse fácil y precisamente utilizando un radio-ensayo (RIA, en inglés) (Gamperl, Vijayan and Boutillier 1994) o un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA, en inglés) (Barry, *et al.* 1993/11/15a; Barry, *et al.* 1993/11/15b).
2. Es posible obtener niveles de cortisol en organismos no estresados del plasma por el propio procedimiento de las muestras, incluida la anestesia (Iwama, Mcgeer and Pawluk 1989; Laidley and Leatherland 1988a; Boesgaard, Nielsen and Rosenkilde 1993/12).

3. Los niveles de cortisol en plasma tienden a incrementarse con la exposición al estresor (Mommssen, Vijayan and Moon, 1999).

Las investigaciones realizadas en el *salmon coho* alimentado con cortisol muestran un aumento en el número de leucocitos en el timo y el riñón anterior mientras, en el bazo ~~los leucocitos disminuyen~~ (Maule and Schreck 1991). Otros autores describen cambios significativos en la respuesta mitogénica a lipopolisacáridos (LPS) o después de incubación de linfocitos con medios enriquecidos con cortisol (Laidley and Leatherland 1988b). Sin embargo, el estudio de Narnaware (Narnaware and Baker 1996/9) no muestra disminución significativa de la actividad fagocítica de macrófagos después de la inyección de 200nM del cortisol. Inconsistentes resultados fueron también encontrados en el *salmon salar* dependiendo de los indicadores analizados. Después de la inyección de cortisol, no fueron observados cambios en los niveles de granulocitos en sangre, linfocitos o monocitos pero sí, significativos incrementos de trombocitos (Narnaware and Baker 1996/9). Los niveles de cortisol tienen un impacto negativo en la resistencia a infecciones microbianas en dorada *Sparus aurata* como resultado de una reducción de la actividad fagocítica de los leucocitos; se demostró que el cortisol (especialmente en altas dosis) tiene un efecto en la regulación de la fagocitosis pero no en la actividad citotóxica (Narnaware and Baker 1996/9). Las células dianas receptoras del cortisol se han detectado en muchos órganos de teleosteos incluyendo leucocitos (Maule, *et al.* 1989; Weyts, *et al.* 1998); no obstante el mecanismo que gobierna este efecto en peces permanece desconocido.

### 7. Conclusiones finales y preguntas abiertas

- *Interrelación entre sistemas: nervioso, endocrino e inmune*

En los peces al igual que en los mamíferos se ha visto una interrelación entre los tres sistemas: nervioso, endocrino e inmune, a pesar que no se ha estudiado con tanta extensión en peces como en mamíferos.

Por ejemplo, se conoce poco acerca de las señales de las células inmunes hacia el sistema neuroendocrino en peces. En este sentido, parece que debería ponerse especial atención en el potencial de las citocinas para la recíproca comunicación entre el sistema neuro-endocrino y el sistema inmune en los peces (Engelsma, *et al.* 2002). Las citocinas proinflamatorias o antiinflamatorias podrían tener un papel en esta comunicación, en especial en procesos patológicos que a su vez activen señales neuroendocrinas.

Asimismo, desde la activación neural, avances recientes sugieren que el factor liberador de la corticotropina (CRH) juega un papel clave en la regulación e integración de los sistemas neuroendocrino, autonómico, inmune y del comportamiento como respuesta a estresores (**Crespi and Denver 2004; Heinrichs and Koob 2004; Lovejoy and Jahan 2006/3; Volkoff, et al. 2005**).

En relación con la función del sistema inmune: las enfermedades y la dieta constituyen dos de los mayores limitantes en el desarrollo de la industria acuícola afectando la producción y comercialización e incrementando la vulnerabilidad del sector; a pesar que la mayoría de enfermedades bacterianas y virales no se consideran peligrosas para la salud y el consumo humano, sí influyen negativamente en su venta y en la confianza de los consumidores, y sobre todo el control de estos patógenos es un reto y un factor determinante para la viabilidad de la actividad de acuicultura (**Vela Vallejo and Ojeda González 2007**). Por ello, el estudio del sistema inmune de los peces, el conocimiento de sus patógenos específicos y la investigación sobre los mecanismos de interacción entre patógenos y huésped son de vital importancia para el futuro del sector.

• *Sistema inmune en peces: posibles líneas de estudio*

En relación a la respuesta inmune, una de las áreas de estudio del futuro son los lipopolisacáridos bacterianos (LPS), también denominados endotoxinas, considerados como un importante factor de virulencia; son los responsables de los efectos letales y manifestaciones clínicas de enfermedades en los seres humanos y animales; a pesar de que se ha estudiado su toxicidad en diferentes peces con respecto a su hábitat, poco se ha estudiado sobre la potencia para expresar citoquinas y otras proteínas de fase aguda, también ejerce efectos neuro-inmunológicos, patológicos, fisiológicos, inmuno-endocrinológicos en varias especies de peces. Los efectos inmuno estimulantes de la endotoxina activan diversos parámetros inmunes como los linfocitos T y B, los macrófagos y el sistema del complemento en los teleósteos. La investigación sobre las endotoxinas (LPS) es de suma importancia en la alimentación humana y animal debido a las ciencias de sus múltiples efectos biológicos (**Swain, et al.**).

Se considera que las pentraxinas juegan un importante papel en la función inmune demostrándose que pueden iniciar la clásica cascada del complemento (**Cook, et al. 2003/0**). La CRP cumple un rol clave en la defensa innata del huésped especialmente en vertebrados inferiores, está evolutivamente conservada en vertebrados e invertebrados con un rango amplio de propiedades. La unión CRP-CPS o APS puede activar el sistema del complemento y

suprimir el crecimiento bacteriano en trucha arco iris (**Nakanishi, et al. 1991**).

Es importante destacar que cualquiera que sean las condiciones ambientales, el sistema inmunitario no está deprimido en todos sus mecanismos de defensa y siempre hay alguno en mayor actividad (**Cuesta and Vargas-Chacoff 2007**). Son necesarios exhaustivos estudios sobre los mecanismos que inmunomodulan y/o inmunoestimulan las especies de cultivo intensivo; creando nuevas herramientas de aplicación en la industria acuícola.

• *Dieta y salud en peces: posibles líneas de estudio*

La dieta y el estado nutricional son factores fundamentales para una explotación piscícola, resulta determinante del estado fisiológico de los animales, tanto de manera directa por su influencia sobre el estado energético, como de manera indirecta por su influencia sobre la resistencia al estrés. La ración adecuada de alimentación se ha demostrado que afecta el crecimiento, la eficacia de la alimentación, el estado inmunológico y la fisiología de peces como la dorada (**Canario, et al. 1998**). Existen evidencias de que algunas dietas mejoran la resistencia de algunos animales a esas condiciones. Tales dietas son enriquecidas con vitaminas como la C y E, inositol, ácidos grasos insaturados y fosfolípidos (**Montero, et al. 1998; Montero, et al. 1999b; Ortuño, Esteban and Meseguer 1999/7; Ortuño, et al. 2001/5/30; Tort, Balasch and MacKenzie 2005**). Una de las estrategias con mayor potencial es el enriquecimiento de las dietas con productos inmuno estimulantes o inmuno moduladores, tales como los probióticos, levaduras de diversos hongos, etc. Todo ello enmarcado en las estrictas normas existentes para la utilización de antibióticos, vacunas vivas etc. En consecuencia, se hacen necesarios estudios para conocer el verdadero alcance fisiológico de estas substituciones en la alimentación de los peces afectando lo menos posible su salud y, por lo tanto, su rendimiento comercial

• *Estudio del estrés: nuevos indicadores inmunitarios*

En el campo de la investigación sobre nuevos indicadores inmunitarios del estrés, parece que un parámetro interesante podría ser el número y la distribución de los glóbulos blancos. Sin embargo, no hay suficientes estudios que muestren un panorama completo de estos parámetros por ejemplo, el número de células (leucocitos o linfocitos) en la sangre y en los órganos linfoides (bazo, riñón anterior y timo) (**Tort, Balasch and MacKenzie 2005**).

Por otro lado, mediante métodos genómicos y proteómicos, se espera que se detecten procesos inmunes, tales

como los mecanismos inmunes siguientes a la infección o durante el desarrollo embrionario y larval, y que esto conduzca a un avance considerable en el campo de la inmunología de los peces en el futuro cercano (**Magnadóttir** 2006/2).

En esta línea de investigación, las pruebas experimentales de retos (*challenge*) son siempre herramientas útiles para determinar la eficiencia del sistema inmune bajo condiciones de estudio requeridas. Las pruebas de resistencia a enfermedades con algún patógeno específico u oportunista indican la capacidad del sistema inmune de vencer los cambios (**Tort, Balasch and MacKenzie** 2005) y por tanto, constituyen un buen modelo para el estudio del estrés.

Los estudios sobre la comunicación entre el sistema inmune innato y el adquirido han recibido mucha atención en especies mamíferas en años recientes, y son de particular interés en los peces debido a los largos períodos entre la detección de la infección hasta la respuesta específica. Un número en aumento de parámetros inmunes innatos comparable a los de especies mamíferas o invertebradas se está describiendo en peces (**Magnadóttir** 2006/2).

Por otro lado, existen discrepancias en cuanto al efecto de ciertos estresores sobre algunos factores fisiológicos, que pueden ser debidas por ejemplo al tiempo transcurrido desde la iniciación del efecto del estresor y la dinámica del mecanismo inmune particular (**Tort**, 1998). Parece, pues, conveniente realizar estudios que tuvieran en cuenta más sistemáticamente la evolución del efecto del estresor en función del tiempo.

- *Interés económico del estudio del estrés en acuicultura*

Por lo que respecta al punto de vista del interés económico del estudio del estrés en peces, resulta obvio por cuanto el estrés suele ser la antesala de los problemas metabólicos, energéticos o la entrada de patologías. A menudo, cuando los tres grandes retos de la acuicultura, la reproducción, nutrición y patología están solucionados o controlados, los problemas que se presentan suelen estar relacionados con alteraciones del medio o de los propios peces que generan una situación de estrés y consecuentemente bajos rendimientos, patógenos oportunistas o alteraciones en la reproducción.

Evidentemente, en la piscicultura es fundamental la correcta adaptación del animal a las condiciones de cultivo (**Davis, Okihiro and Hinton** 2002/10/30). Cuanto mejor es la adaptación (es decir, menor estrés soportado), tanto mejor serán las posibilidades del mantenimiento en cauti-

vidad, el crecimiento y la reproducción de la especie, y en consecuencia, la productividad comercial y la rentabilidad de estas explotaciones. Finalmente, las condiciones de cultivo deben evitar o minimizar las situaciones de estrés en los procesos de producción de las especies acuícolas (**Van Weerd and Komen** 1998/5/1; **Weyts, et al.** 1999/1).

### Referencias bibliográficas

- Abukhalaf, I. K., Covington, S., Zimmerman, E. G., Dickson, K. L., Masaracchia, R. A. and Donahue, M. J.** (1994). Purification of the 70-Kda Heat-Shock Protein from Catfish Liver - Immunological Comparison of the Protein in Different Fish Species and its Potential use as a Stress Indicator. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13: 1251-1257.
- Acerete, L., Balasch, J. C., Espinosa, E., Josa, A. and Tort, L.** (2004). Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*, 237: 167-178.
- Altimiras, J., Champion, S. R., Puigserver, M. and Tort, L.** (1994). Physiological- responses of the gilthead sea bream *Sparus aurata* to hypoosmotic shock. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology* 108: 81-85.
- Anderson, D. P.** (1997) Adjuvants and immunostimulants for enhancing vaccine potency in fish. *Fish Vaccinology* 90, 257-265.
- Arends, R. J., Mancera, J. M., Muñoz, J. L., Wendelaar Bonga, S. E. and Flik, G.** (1999) The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. *J. Endocrinol.* 163: 149-157.
- Baigent, S. M.** (2001/5) Peripheral corticotropin-releasing hormone and urocortin in the control of the immune response. *Peptides* 22, 809-820.
- Barry, T. P., Lapp, A. F., Kayes, T. B. and Malison, J. A.** (1993/11/15) Validation of a microtitre plate ELISA for measuring cortisol in fish and comparison of stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquaculture* 117: 351-363.
- Barton, B. A., Iwama, G. K. and Pickering, A. D.** (1997). *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Soc. Exp. Biol. Seminar Series. 62.
- Barton, B. A., Rahn, A. B., Feist, G., Bollig, H. and Schreck, C. B.** (1998/5). Physiological stress responses of the freshwater chondrosteian paddlefish (*Polyodon spathula*) to acute physical disturbances. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120: 355-363.
- Barton, B. A., Ribas, L., Acerete, L. and Tort, L.** (2005). Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to acute handling. *Aquacult. Res.* 36: 172-179.
- Bayne, C. J. and Gerwick, L.** (2001). The acute phase response and innate immunity of fish. *Dev. Comp. Immunol.* 25: 725-743.
- Bernier, N. J.** (2006/3). The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146: 45-55.

- Bernier, N. J. and Peter, R. E.** (2001). Appetite-suppressing effects of urotensin I and corticotropin-releasing hormone in goldfish (*Carassius auratus*). *Neuroendocrinology* 73: 248-260.
- Berthoud, H.** (2002). Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 26: 393-428.
- Bly, J. E., Quiniou, S. M. A. and Clem, L. W.** (1997). Environmental effects on fish immune mechanisms. *Fish Vaccinology* 90: 33-43.
- Boesgaard, L., Nielsen, M. E. and Rosenkilde, P.** (1993/12). Moderate exercise decreases plasma cortisol levels in atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 106: 641-643.
- Canario, A. V. M., J. C., M. P., D. and M. I., P.** (1998). The effect of stocking density on growth in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata* (L.). *Aquacult. Res.* 29: 177-181.
- Cannon, W. B.** (1929). *Bodily changes in Pain, Hunger, Fear and Rage.* Branford, Boston.
- Carragher, J. F., Sumpter, J. P., Pottinger, T. G. and Pickering, A. D.** (1989). The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. *Gen. Comp. Endocrinol.* 76: 310-321.
- Cook, M. T., Hayball, P. J., Birdseye, L., Bagley, C., Nowak, B. F. and Hayball, J. D.** (2003/0). Isolation and partial characterization of a pentraxin-like protein with complement-fixing activity from snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae) serum. *Developmental & Comparative Immunology* 27: 579-588.
- Crespi, E. J. and Denver, R. J.** (2004). Ontogeny of corticotropin-releasing factor effects on locomotion and foraging in the Western spadefoot toad (*Spea hammondi*). *Horm. Behav.* 46: 399-410.
- Cubero, L. and Molinero, A.** (1997). Handling, confinement and anaesthetic exposure induces changes in the blood and tissue immune characteristics of gilthead sea bream. *Dis. Aquat. Org.* 31: 89-94.
- Cuesta, A. and Vargas-Chacoff, L.** (2007). Efecto de la temperatura y salinidad sobre parámetros humorales del sistema inmunitario de la dorada (*Sparus aurata* L.). XI Congreso Nacional de Acuicultura (Vigo, 24-28, Septiembre, 2007).
- Cupps, T. R. and Fauci, A. S.** (1982). Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol. Rev.* 65: 133-155.
- Davis, C. R., Okihiro, M. S. and Hinton, D. E.** (2002/10/30). Effects of husbandry practices, gender, and normal physiological variation on growth and reproduction of Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology* 60: 185-201.
- Davis, L. E. and Schreck, C. B.** (1997). The energetic response to handling stress in juvenile coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 126: 248-258.
- Demers, N. E. and Bayne, C. J.** (1997). The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Dev. Comp. Immunol.* 21: 363-373.
- Edagawa, T., Murata, M., Hattori, M., Onuma, M. and Kodama, H.** (1993). Cell-Surface C-Reactive Protein of Rainbow-Trout Lymphocytes. *Dev. Comp. Immunol.* 17: 119-127.
- Engel, B. T.** (1998). An historical and critical review of the articles on blood pressure published in *Psychosomatic Medicine* between 1939 and 1997. *Psychosom. Med.* 60: 682-696.
- Engelsma, M. Y., Hougee, S., Nap, D., Hofenk, M., Rombout, Jan H W M., van Muiswinkel, W. B. and Lidy Verburg-van Kemenade, B M.** (2003). Multiple acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish Shellfish Immunol.* 15: 397-410.
- Engelsma, M. Y., Huising, M. O., van Muiswinkel, W. B., Flik, G., Kwang, J., Savelkoul, H. F. J. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (2002). Neuroendocrine-immune interactions in fish: a role for interleukin-1. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 87: 467-479.
- Feige, U., Morimoto, R. I. and Yahara, I.** (1996). Stress-inducible cellular response.
- Flik, G., Klaren, P. H. M., Van den Burg, Erwin H., Metz, J. R. and Huising, M. O.** (2006/3). CRF and stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146: 36-44.
- Fries, C. R.** (1986). Effects of Environmental Stressors and Immunosuppressants on Immunity in *Fundulus-Heteroclitus*. *Am. Zool.* 26: 271-282.
- Gamperl, A. K., Vijayan, M. M. and Boutilier, R. G.** (1994). Experimental control of stress hormone levels in fishes - techniques and applications. *Rev. Fish Biol. Fish.* 4: 215-255.
- Gerwick, L., Demers, N. E. and Bayne, C. J.** (1999). Modulation of stress hormones in rainbow trout by means of anesthesia, sensory deprivation and receptor blockade. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 124: 329-334.
- Harris, J. and Bird, D. J.** (2000). Modulation of the fish immune system by hormones. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 77: 163-176.
- Heinrichs, S. C. and Koob, G. F.** (2004). Corticotropin-releasing factor in brain: A role in activation, arousal, and affect regulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 311: 427-440.
- Iwama, G. K.** (1991). Interactions between aquaculture and the environment. *Critical Reviews in Environmental Control* 21: 177-216.
- Iwama, G. K., Mcgeer, J. C. and Pawluk, M. P.** (1989) The effects of 5 fish anesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood-gases, cortisol, and adrenaline in rainbow-trout. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 67: 2065-2073.
- Iwama, G. K., Thomas, P. T., Forsyth, R. H. B. and Vijayan, M. M.** (1998). Heat shock protein expression in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 8: 35-56.
- kentuckylake.com. (2007). [www.kentuckylake.com/.../pics/Fish-Anatomy.jpg](http://www.kentuckylake.com/.../pics/Fish-Anatomy.jpg).
- Kodama, H., Matsuoka, Y., Tanaka, Y., Liu, Y. C., Iwasaki, T. and Watarai, S.** (2004). Changes of C-reactive protein levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sera after exposure to anti-ectoparasitic chemicals used in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 16: 589-597.
- Korzan, W. J., Overli, O., Watt, M. J., Forster, G. L., Höglund, E. and Summers, C. H.** (2002). Behavior in established social

hierarchies are influenced by visual sympathetic signals. *Integrative and Comparative Biology* 42: 1259-1259.

- Kushner, I.** (1993). Regulation of the acute-phase response by cytokines. *Perspect. Biol. Med.* 36: 611-622.
- Laidley, C. W. and Leatherland, J. F.** (1988a). Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri richardson*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 89: 495-502.
- Laidley, C. W. and Leatherland, J. F.** (1988b). Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and spleen weight in rainbow trout, *Salmo gairdneri richardson*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 89: 495-502.
- Levine, S. & U., H.** (1991). What is Stress? *Stress, Neurobiology and Endocrinology* 3-21.
- Liu, Y. C., Iwasaki, T., Watarai, S. and Kodama, H.** (2004). Effect of turpentine oil on C-reactive protein (CRP) production in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.* 17: 203-210.
- Lovejoy, D. A. and Jahan, S.** (2006/3). Phylogeny of the corticotropin-releasing factor family of peptides in the metazoa. *General and Comparative Endocrinology* 146, 1-8.
- Lund, V. and Olafsen, J. A.** (1999/1/2). Changes in serum concentration of a serum amyloid P-like pentraxin in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., during infection and inflammation. *Developmental & Comparative Immunology* 23: 61-70.
- Lund, V. and Olafsen, J. A.** (1998/4/1). A comparative study of pentraxin-like proteins in different fish species. *Developmental & Comparative Immunology* 22: 185-194.
- Macintyre, S., Schultz, D. and Kushner, I.** (1983). Studies of the relationship between synthesis and secretion of c-reactive protein during the acute phase response. *Fed. Proc.* 42: 600-600.
- Magnadóttir, B.** (2006/2). Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish Immunology* 20, 137-151.
- Matteri, R. L. and Becker, B. A.** (1994/4). Somatotroph, lactotroph and thyrotroph function in three-week-old gilts reared in a hot or cool environment. *Domestic Animal Endocrinology* 11: 217-226.
- Matty, A. J.** (1985). Nutrition and aquaculture. *Outlook Agric.* 14: 14-20.
- Maule, A. G. and Schreck, C. B.** (1991). Stress and cortisol treatment changed affinity and number of glucocorticoid receptors in leukocytes and gill of coho salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 84: 83-93.
- Maule, A. G., Tripp, R. A., Kaattari, S. L. and Schreck, C. B.** (1989). Stress alters immune function and disease resistance in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *J. Endocrinol.* 120: 135-142.
- Mazon, A. F., Nolan, D. T., Lock, R. A. C., Fernandes, M. N. and Wendelaar Bonga, S. E.** (2004). A short-term in vitro gill culture system to study the effects of toxic (copper) and non-toxic (cortisol) stressors on the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Toxicol. In Vitro.* 18: 691-701.
- Mazur, C. F. and Iwama, G. K.** (1993). Effect of handling and stocking density on hematocrit, plasma-cortisol, and survival in wild and hatchery-reared chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 112: 291-299.
- McKay, L. I. and Cidlowski, J. A.** (1999). Molecular control of immune. *Endocr. Rev.* 20: 435-459.
- Mock, A. and Peters, G.** (1990). Lysozyme activity in rainbow-trout, *oncorhynchus-mykiss* (walbaum), stressed by handling, transport and water-pollution. *J. Fish Biol.* 37: 873-885.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M. and Moon, T. W.** (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fish.* 9: 211-268.
- Montero, D., Izquierdo, M. S., Tort, L., Robaina, L. E. and Vergara, J. M.** (1999a). High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20: 53-60.
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M. S., Robaina, L. E., Vergara, J. M. and Tort, L.** (1999b). Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 171: 269-278.
- Montero, D., Tort, L., Izquierdo, M. S., Robaina, L. E. and Vergara, J. M.** (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.
- Moon, T. W., Busby, E. R., Cooper, G. A. and Mommsen, T. P.** (1999). Fish hepatocyte glycogen phosphorylase - a sensitive indicator for hormonal modulation. *Fish Physiol. Biochem.* 21: 15-24.
- Munkittrick, K. R., Miller, P. A., Barton, D. R. and Dixon, D. G.** (1991/6). Altered performance of white sucker populations in the manitouwadge chain of lakes is associated with changes in benthic macroinvertebrate communities as a result of copper and zinc contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21: 318-326.
- Nakanishi, Y., Kodama, H., Murai, T., Mikami, T. and Izawa, H.** (1991). Activation of Rainbow-Trout Complement by C-Reactive Protein. *Am. J. Vet. Res.* 52: 397-401.
- Nakano, T. and Tolimso, N.** (1967). Catecholamine and carbohydrate concentrations in rainbow trout (*salmo gairdneri*) in relation to physical disturbance. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 24: 1701.
- Narnaware, Y. K. and Baker, B. I.** (1996/9). Evidence That Cortisol May Protect against the Immediate Effects of Stress on Circulating Leukocytes in the Trout. *General and Comparative Endocrinology* 103: 359-366.
- Nikinmaa, M. and Soivio, A.** (1982). Blood-oxygen transport of hypoxic *salmo-gairdneri*. *J. Exp. Zool.* 219: 173-178.

- Nikinmaa, M., Soivio, A. and Railo, E.** (1981). Blood-volume of salmo-gairdneri - influence of ambient-temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology* 69: 767-769.
- Nilsson, S.** (1984). Adrenergic control-systems in fish. *Marine Biology Letters* 5: 127-146.
- Ortuño, J., Cuesta, A., Angeles Esteban, M. and Meseguer, J.** (2001/5/30). Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 79: 167-180.
- Ortuño, J., Esteban, M. A. and Meseguer, J.** (1999/7). Effect of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 9: 429-443.
- Overli, O., Korzan, W. J., Larson, E. T., Winberg, S., Lepage, O., Pottinger, T. G., Renner, K. J. and Summers, C. H.** (2004). Behavioral and neuroendocrine correlates of displaced aggression in trout. *Horm. Behav.* 45: 324-329.
- Overli, O., Pottinger, T. G., Carrick, T. R., Overli, E. and Winberg, S.** (2001). Brain monoaminergic activity in rainbow trout selected for high and low stress responsiveness. *Brain Behav. Evol.* 57: 214-224.
- Pepeles, Peter P L M. and Balm, P. H. M.** (2004). Ontogeny of corticotropin-releasing factor and of hypothalamic-pituitary-interrenal axis responsiveness to stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*; Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.* 139: 251-265.
- Pepeles, Peter P L M., Pesman, G., Korsten, H., Wendelaar Bonga, S. E. and Balm, P. H. M.** (2002). Corticotropin-releasing hormone (CRH) in the teleost fish *Oreochromis mossambicus* (tilapia): in vitro release and brain distribution determined by a novel radioimmunoassay. *Peptides* 23: 1053-1062.
- Perry, S. F., Reid, S. G., Gilmour, K. M., Bojink, C. L., Lopes, J. M., Milsom, W. K. and Rantin, F. T.** (2004). A comparison of adrenergic stress responses in three tropical teleosts exposed to acute hypoxia. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 287: R188-R197.
- Pickering, A. D., Pottinger, T. G., Sumpter, J. P., Carragher, J. F. and Le Bail, P. Y.** (1991). Effects of acute and chronic stress on the levels of circulating growth hormone in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 83: 86-93.
- Pottinger, T. G., Balm, P. H. M. and Pickering, A. D.** (1995). Sexual maturity modifies the responsiveness of the pituitary-interrenal axis to stress in male rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 98: 311-320.
- Reid, S. G., Bernier, N. J. and Perry, S. F.** (1998/7/1). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 120: 1-27.
- Ristori, M. T. and Laurent, P.** (1985). Plasma-catecholamines and glucose during moderate exercise in the trout - comparison with bursts of violent activity. *Exp. Biol.* 44: 247-253.
- Roberts Ronald J.** (1981). *Patología de los peces*. Mundi-Prensa 1981.
- Roberts, M. L., Davies, S. J. and Pulsford, A. L.** (1995/1). The influence of ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 5: 27-38.
- Rotllant, J., Arends, R. J., Mancera, J. M., Flik, G., Bonga, S. E. W. and Tort, L.** (2000a). Inhibition of HPI axis response to stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) with physiological plasma levels of cortisol. *Fish Physiol. Biochem.* 23: 13-22.
- Rotllant, J., Balm, P. H. M., Ruane, N. M., Perez-Sanchez, J., Wendelaar Bonga, S. E. and Tort, L.** (2000b). Pituitary proopiomelanocortin-derived peptides and hypothalamus-pituitary-interrenal axis activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during prolonged crowding stress: Differential regulation of adrenocorticotropin hormone and alpha-melanocyte-stimulating hormone release by corticotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 119: 152-163.
- Rotllant, J., Montero, D., Caballero, M. J., Robaina, L. E., Izquierdo, M. S. and Tort, L.** (2003). Differences in interrenal tissue, biosynthetic capacity and ACTH sensitivity in progeny of sea bream from parents selected for high or low cortisol response. *J. Fish Biol.* 62: 744-748.
- Rotllant, J., Pavlidis, M., Kentouri, M., Adad, M. E. and Tort, L.** (1997). Non-specific immune responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress. *Aquaculture* 156: 279-290.
- Rotllant, J., Ruane, N. M., Caballero, M. J., Montero, D. and Tort, L.** (2003). Response to confinement in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is characterised by an increased biosynthetic capacity of interrenal tissue with no effect on ACTH sensitivity. *Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology* 136: 613-620.
- Rotllant, J. and Tort, L.** (1997). Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *J. Fish Biol.* 51: 21-28.
- Schreck, C. B.** (1982/6). Stress and rearing of salmonids. *Aquaculture* 28: 241-249.
- Secombes, C. J., Hardie, L. J. and Daniel, G.** (1996/5). Cytokines in fish: an update. *Fish & Shellfish Immunology* 6: 291-304.
- Selye, H.** (1950). *Stress*. Acta, Montreal
- Slater, C. H., Fitzpatrick, M. S. and Schreck, C. B.** (1995/11/15). Androgens and immunocompetence in salmonids: Specific binding in and reduced immunocompetence of salmonid lymphocytes exposed to natural and synthetic androgens. *Aquaculture* 136: 363-370.
- Sloman, K. A., Montpetit, C. J. and Gilmour, K. M.** (2002). Modulation of catecholamine release and cortisol secretion by social interactions in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 127: 136-146.
- Steel, D. M. and Whitehead, A. S.** (1994/2). The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* 15: 81-88.
- Summers, C. H., Forster, G. L., Korzan, W. J., Watt, M. J., Larson, E. T., Overli, O., Höglund, E., Ronan, P. J., Summers, T. R., Renner, K. J. and Greenberg, N.** (2005). Dynamics and

- mechanics of social rank reversal. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 191, 241-252.
- Sunyer, J. O. and Tort, L.** (1995). Natural hemolytic and bactericidal activities of sea bream *Sparus aurata* serum are effected by alternative complement pathway. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 45: 333-345.
- Sunyer, J. O., Tort, L. and Lambris, J. D.** (1997). Diversity of the third form of complement, C3, in fish: Functional characterization of five forms of C3 in the diploid fish *Sparus aurata*. *Biochem. J.* 326: 877-881.
- Swain, P., Nayak, S. K., Nanda, P. K. and Dash, S.** Biological effects of bacterial lipopolysaccharide (endotoxin) in fish: A review. 2008 In Press, Corrected Proof,
- Thuvander, A., Wichardt, U. P. and Reitan, L. J.** (1993). Humoral Antibody-Response of Brown Trout *Salmo-Trutta* Vaccinated Against Furunculosis. *Dis. Aquat. Org.* 17: 17-23.
- Tort, L.** (1998). Stress and immunosuppression in fish. *Trends in Comparative Biochem. & Physiol.* 5: 17-29.
- Tort, L., Balasch, J. C. and MacKenzie, S.** (2005). Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science* 2-4, 443-454.
- Tort, L., Gomez, E., Montero, D. and Sunyer, J. O.** (1996). Serum haemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocompetence: Their suitability in stress and dietary studies. *Aquacult. Int.* 4: 31-41.
- Tort, L., Gonzalezarch, F. and Balasch, J.** (1994). Plasma-glucose and lactate and hematological-changes after handling stresses in the dogfish. *Rev. Esp. Fisiol.* 50: 41-46.
- Tort, L., Gonzalezarch, F., Torres, P. and Hidalgo, J.** (1991). On the blood-volume of the mediterranean dogfish, *Scyliorhinus-canicula*. *Fish Physiol. Biochem.* 9: 173-177.
- Tort, L. and Hernandezpascual, M. D.** (1990). Hematological effects in dogfish (*Scyliorhinus-canicula*) after short-term sublethal cadmium exposure. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 18: 379-383.
- Tort, L., Kargacin, B., Torres, P., Giralt, M. and Hidalgo, J.** (1996). The effect of cadmium exposure and stress on plasma cortisol, metallothionein levels and oxidative status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology* 114: 29-34.
- Turnbull, A. V. and Rivier, C. L.** (1999). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol. Rev.* 79: 1-71.
- Van Weerd, J. H. and Komen, J.** (1998/5/1). The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120: 107-112.
- Vela Vallejo, S. and Ojeda Gonzalez, J.** (2007). *Revolución azul*, APROMAR, Madrid.
- Vijayan, M. M., Pereira, C., Forsyth, R. B., Kennedy, C. J. and Iwama, G. K.** (1997). Handling stress does not affect the expression of hepatic heat shock protein 70 and conjugation enzymes in rainbow trout treated with beta-naphthoflavone. *Life Sci.* 61: 117-127.
- Volkoff, H., Canosa, L. F., Unniappan, S., Cerdá-Reverter, J. M., Bernier, N. J., Kelly, S. P. and Peter, R. E.** (2005). Neuropeptides and the control of food intake in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 142: 3-19.
- Wendelaar Bonga, S. E.** (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77: 591-625.
- Weyts, F. A., Cohen, N., Flik, G. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (1999/1). Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 9: 1-20.
- Weyts, F. A., Flik, G., Rombout, Jan H W M. and Verburg-van Kemenade, B. M.** (1998). Cortisol induces apoptosis in activated B cells, not in other lymphoid cells of the common carp, *Cyprinus carpio* L. *Dev. Comp. Immunol.* 22: 551-562.

Recibido: 15 de febrero de 2008

Aceptado para su publicación: 16 de julio de 2008