

# **RESPUESTAS FISIOLÓGICAS DE PECES SOMETIDOS A ESTRÉS**

## **PYSIOLOGICAL RESPONSES OF FISHES SUBJECT TO STRESS**

Trabajo de Fin de Grado

**Eduardo Martín de los Santos Rodríguez de Vera**

Tutorizado por Dra. Ana Bolaños Martín

Grado en Biología. Julio 2017

# ÍNDICE

---

Resumen .....	1
Abstract .....	1
Introducción.....	3
Objetivos .....	6
Desarrollo .....	7
Factores estresantes y tipos de estrés.....	7
Estrés nutricional.....	7
Estrés traumático.....	7
Estrés químico.....	7
Estrés social.....	8
Estrés oxidativo.....	8
Estrés térmico.....	10
Sistema de respuesta ante el estrés .....	11
Ejes de respuesta .....	11
Respuesta primaria, secundaria y terciaria.....	16
Indicadores del estrés.....	20
Indicadores neuroendocrinos (Adrenalina y cortisol).....	20
Índices metabólicos de respuesta secundaria .....	20
Proteínas de shock térmico (Hsp) como indicadores de estrés .....	20
Ácidos grasos como indicadores de estrés.....	22
Metalotioneínas como indicadores de estrés.....	22
Ritmos de estrés.....	23
Reductores del estrés .....	24
Conclusiones .....	26
Conclusions .....	27
Bibliografía.....	28

## **Resumen**

Los factores de estrés percibidos pueden evocar respuestas no específicas en los peces, que se consideran adaptables porque permiten al pez hacer frente a la perturbación y mantener su estado homeostático. Si el agente estresante es excesivamente severo o duradero hasta el punto de que el pez no es capaz de recuperar la homeostasis, entonces las propias respuestas pueden volverse no adaptativas y amenazar su salud y bienestar. Las respuestas fisiológicas al estrés se agrupan como primarias, que incluyen cambios endocrinos como aumento de catecolaminas y corticosteroides circulantes en sangre; secundarias, que incluyen cambios en las características relacionados con el metabolismo, balance hidromineral y funciones cardiovasculares, respiratorias e inmunes; y terciarias, que afectan al crecimiento, a la resistencia a las enfermedades y al comportamiento, y que pueden resultar de las respuestas primaria y secundaria, y en gran medida afectar la supervivencia. La variación existente en las respuestas al estrés de los peces es evidente al comprobar los cambios en los indicadores plasmáticos, como los niveles de cortisol, la síntesis de HSPs, o el estado de los ácidos grasos, cuya variación es inespecífica y nos facilitarán el saber la intensidad de la respuesta elaborada ante estas situaciones. Comprender los factores que afectan a la magnitud, duración y recuperación en los cambios fisiológicos, es importante para poder llevar a cabo diseños de métodos o técnicas que sean reductoras del estrés en peces.

**Palabras clave:** CATECOLAMINAS, CORTISOL ESTRÉS, HOMEOSTASIS, PECES

## **Abstract**

Stress factors can be evoked without any specification in the fish, which are considered adaptable because they allow the fish to cope with the disturbance and maintain its homeostatic state. If the stressing agent is excessively severe or durable to the point that the fish is not able to recover homeostasis, and the responses themselves may become non-adaptive and threaten their health and well-being. Physiological responses to stress are grouped as primary, including endocrine changes such as increased catecholamines and circulating corticosteroids in the blood; Secondary, which include changes in the characteristics related to metabolism, hydromineral balance and cardiovascular, respiratory and immune functions; And tertiary diseases, which affect growth, resistance to disease and behavior, and which may result from primary and secondary responses, and to a large extent

affect survival. The variation in the responses to fish stress is evident when checking for changes in plasma indicators, such as cortisol levels, HSP synthesis, fatty acid status, whose variation is nonspecific and not known. The intensity Of the response elaborated in these situations. Understanding the factors affecting magnitude, duration, and recovery in physiological changes is important in order to carry out designs of methods or techniques that are stress-reducing in fish.

**Key words:** CATECHOLAMINES, CORTISOL, STRESS, HOMEOSTASIS, FISH

## Introducción

La palabra estrés inicialmente se utilizó en el campo de la ingeniería para hacer referencia a la fuerza, o sistema de fuerzas, que provocan la deformación al aplicarse sobre una estructura o metal. Fue en 1936 cuando Hans Selye introdujo el término dentro del campo de las ciencias médicas. Denotó como estrés a un síndrome que es producido por agentes nocivos, con la finalidad de adaptar al organismo a su medio cambiante, definiéndolo como la respuesta no específica del cuerpo a cualquier demanda hecha sobre ella (Selye, 1973).

El estrés también puede definirse como una situación en la que un elemento potencialmente negativo puede alterar el equilibrio interno (homeostasis) de un organismo. La respuesta que este da al estrés se considera un mecanismo de adaptación que permite a los individuos hacer frente a los factores de estrés reales o percibidos, con el fin de mantener su estado de homeostasis amenazado, pudiéndolo restablecer mediante un conjunto complejo de respuestas adaptativas (Chrousos, 1998). Dichos factores estresantes son muy variados y pueden relacionarse con los cambios del medio (físicos y químicos del agua), las interacciones biológicas con otros organismos, etc.

Tal y como propone Selye (1985) el estrés puede tener dos fases: “eustrés” o estrés beneficioso y “diestrés” o estrés perjudicial. El eustrés aparece como una respuesta del organismo bajo situaciones que provocan cambios fisiológicos que ayudan su funcionamiento, como por ejemplo cuando se realiza un ejercicio prolongado. El diestrés se presenta cuando ciertos factores promueven distintos cambios fisiológicos que pueden comprometer la integridad del organismo. La mayor parte de las investigaciones se han centrado en el estudio de la fase de diestrés.

Como todos los organismos, los peces requieren una buena comunicación entre sus sistemas inmune, nervioso y endocrino para responder a los cambios en su ambiente. Así se comprueba la existencia de un importante número de interconexiones, constituyendo una compleja red de transmisores entre los tres sistemas (Tort, *et al.* 1998). Esto es debido a que las señales moleculares sintetizadas por células y tejidos son similares, formando una comunicación bidireccional (Turnbull, *et al.* 1999; Baigent, *et al.* 2001). Esta red de señalización implica unos mensajeros químicos (hormonas y citocinas de los sistemas neuroendocrinos e inmune) que muestran una interacción en íntima colaboración. Todas estas comunicaciones son la base para que el organismo pueda dar una respuesta adecuada a las variaciones ambientales, y mantener su estado de homeostasis (Engelsma, *et al.* 2002).

Cada respuesta ante el estrés es de diferente duración dependiendo de los factores estresantes y del propio organismo. En referencia a ello se diferencian dos tipos de estrés: el estrés agudo, que involucra rápidos y altos niveles de secreciones de esteroides, a los que sigue una recuperación a las pocas horas de la inducción, reduciéndose así la energía empleada durante estos episodios; y el estrés crónico, con el que hacemos referencia a agentes estresantes que permanecen en el tiempo. Lo que supone un mayor problema, ya que la respuesta fisiológica de los peces pierde su valor adaptativo y puede acabar siendo perjudicial, produciendo la mayoría de los casos respuestas terciarias de estrés.

Por ello hay que tener en cuenta que situaciones breves de estrés pueden llegar a ser un problema importante cuando se presentan de forma permanente. Numerosos trabajos en peces, muestran como consecuencias a un estrés crónico: la muerte, afecciones en el crecimiento, predisposición a enfermedades, o imposibilidad de resistencia ante nuevas situaciones estresantes (Schreck, 2000). Esto es debido a que el mantenimiento de la homeostasis es un proceso que demanda energía (Schreck, *et al.* 1981), la cual no está disponible para otras funciones vitales, comprometiéndolas temporal o permanentemente (Barton, *et al.* 1998).

Para explicar de manera general cómo reacciona un animal ante el estrés, Seyle propuso El Síndrome de Adaptación General, que se basa en la respuesta del organismo ante una situación de estrés ambiental distribuida en tres fases o etapas:

- La 1 fase o de alarma se define como el intento de huida por parte del animal. Es una respuesta a nivel neuroendocrino donde se induce la liberación de catecolaminas (CAs) (adrenalina y noradrenalina) y cortisol al torrente sanguíneo. Para llevar a cabo la posible huida se inicia la actividad motora aumentando el ritmo cardiaco, y el flujo sanguíneo hacia los órganos más activos: cerebro, corazón, branquias y músculo esquelético.
- La 2 fase o de resistencia sucede cuando el estrés persiste y el animal trata de adaptarse., disminuyéndose los niveles de CAs y liberándose cortisol a nivel sanguíneo y tisular.
- La 3 fase o de agotamiento aparece cuando el estrés persiste en el tiempo y tanto los niveles de cortisol como el metabolismo se encuentran aumentados interfiriendo así en procesos fisiológicos que pueden conducir a la muerte del animal (Figura 1).

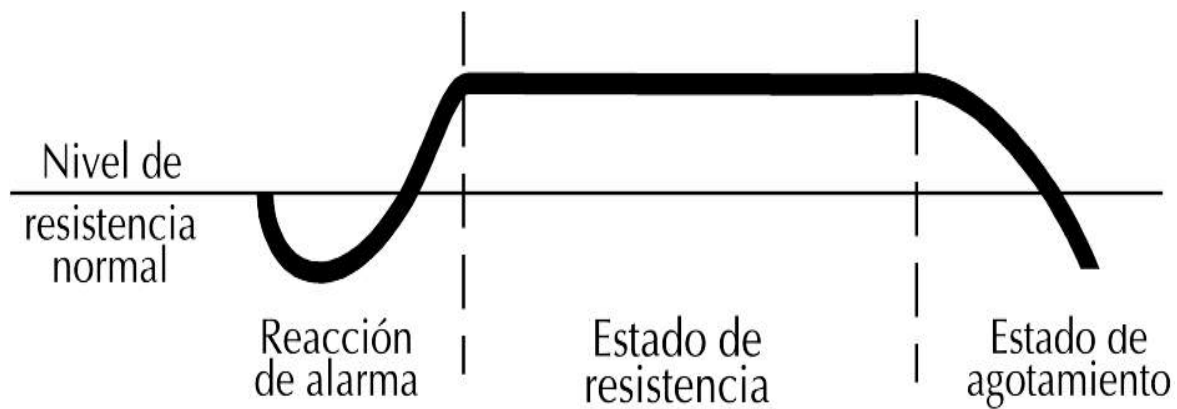


Figura 1: Fases del Síndrome General de Adaptación

La acuicultura ha tenido en los últimos años adelantos significativos en la producción de una variedad de organismos acuáticos, tanto para consumo humano, como de especies de ornato. La acuicultura no es solo un complemento de la pesca, sino que es la ganadería con mayor proyección de futuro. Esto es debido a que el 70% de la superficie del planeta es agua, los animales acuáticos son convertidores más eficientes de su alimento que los animales terrestres y tienen unas tasas de reproducción mucho mayores que la de estos últimos. La acuicultura suministró a la población mundial un total de 97,2 toneladas de pescado, superando a la provista por la pesca. En un futuro próximo la acuicultura será la manera más común de aprovisionamiento de productos acuáticos para la mayor parte de la humanidad (FAO, 2014).

Todo ello ha traído consigo la necesidad de estudiar el efecto que las altas densidades de cría provoca en los peces, ya que las tasas de crecimiento, los índices de fertilidad y, más aún, la incidencia y frecuencia de enfermedades, están determinadas por la respuesta al síndrome general de adaptación. Se considera que estas condiciones de cría eleva el número de los diversos agentes estresores que inciden sobre ellos. Estos se pueden dividir en factores físicos, como la competencia de recursos, espacio o en casos extremos canibalismo (Piyatiratitivorakul *et al.*, 2001) y en factores químicos, como la acumulación de productos de excreción, en el agua de cultivo que tienen efectos tóxicos para el organismo (Nga *et al.*, 2005).

### **Objetivos**

En base a lo anteriormente expuesto, se ha propuesto como objetivo general del presente trabajo: recopilar información sobre las respuestas fisiológicas que presentan los peces ante una situación de estrés.

Para la consecución del mismo, se abordarán como objetivos específicos los siguientes:

1. Saber cuáles son los factores desencadenantes de estas situaciones estresantes.
2. Conocer las respuestas fisiológicas de los peces al estrés.
3. Identificar aquellos parámetros que sean indicadores del estrés.
4. Métodos para reducir el estrés en peces.



## Desarrollo

### Factores estresantes y tipos de estrés

Se han identificado muchos estímulos que amenazan alterar el equilibrio fisiológico (homeostasis) de los peces. Estos los podemos agrupar en varias categorías dependiendo del tipo de estrés que ocasionen en el organismo:

#### Estrés nutricional

La mayoría de veces este tipo de estrés ocurre en sistemas de cría intensiva, donde un almacenamiento de los piensos da lugar a problemas de degradación o pérdida de nutrientes o de vitaminas en el alimento, lo que conduce a unas patologías específicas. Las branquias y columna vertebral deformadas está relacionada con una alimentación carente de ácido ascórbico (vit C). También es frecuente observar alteraciones en la visión y una degeneración de la retina por falta de Vit A. Incluso distrofia muscular cuando el alimento no le aporta al pez suficiente vit E. También son comunes las lesiones hepáticas (hígado graso) asociadas a una nutrición lipídica no adecuadas (Corredor *et al.*, 2009).

#### Estrés traumático

Se habla de este tipo de estrés cuando se hace referencia a lesiones traumáticas en peces por canibalismo o por elementos físicos peligrosos en su medio. Las lesiones se pueden observar de manera macroscópica, y pueden constituir una vía de entrada a infecciones bacterianas, virales o micóticas (Auró de Ocampos, 1999)

#### Estrés químico

Cuando el agua en la que habitan los peces se contamina, bien por residuos animales o por vertidos procedentes de cultivos o industriales, se produce un tipo de estrés químico que afecta directamente la salud de éstos. Los xenobióticos y metales pesados constituyen una amplia gama de contaminantes exógenos que se han estudiado como causantes de una pérdida de homeostasis en estos animales. Aunque no sólo se hace referencia a los peces salvajes que se vean sometidos a vertidos en su hábitat, sino que incluso en la acuicultura intensiva, dependiendo del origen del agua de los estanques, pueden darse este tipo de situaciones. Los

contaminantes químicos producen cambios bioquímicos y estructurales que constituyen una patología muy especial. Por ejemplo, el amonio está muy bien documentado como tóxico para los peces. Siendo su forma no ionizada ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ) la que mayor toxicidad produce, aumentando su disociación con el pH y la temperatura. Se ha identificado que la hiperplasia del epitelio branquial, así como los cambios degenerativos y hemorragia en el hígado, son las consecuencias de una exposición a un estrés crónico por amonio (El-shebly *et al.*, 2011).

### **Estrés social**

Todos estos factores estresantes pueden alterar la fisiología de los peces, pero también pueden llegar a provocar cambios en su comportamiento. Es normal que en poblaciones salvajes o confinadas, exista una competencia tanto por el espacio, como por el alimento. Por ejemplo, un pez que frecuentemente sea sometido a acciones de un individuo dominante, mostrará un comportamiento inhibido casi inevitablemente. Cesando su competencia por el alimento, por las parejas reproductivas o por el territorio (Overli, *et al.* 2004). Una de las técnicas más usadas en acuicultura para evitar esta competencia causante de estrés, es el proveer el suficiente alimento para que todos los individuos reciban su ración. Aunque se conoce que algunos peces como la tilapia (*Oreochromis*) son muy agresivos y territoriales, lo que dificultaría el reducir estos comportamientos que derivan en problemas de estrés (Auró de Ocampos, 1999). Existe la hipótesis de que este tipo de comportamiento agresivo hacia otros, es un reductor de estrés, que actúa copiando la estrategia sufrida después de una derrota, generalmente contra individuos de menor tamaño (Summers, *et al.* 2005).

También, altas densidades de cultivo originan problemas de estrés crónico que afectan al metabolismo del animal y comprometen su proceso de crecimiento. R. Laiz-Carrión y colaboradores (2002), demostraron que existe un claro aumento de indicadores de estrés (cortisol) en ejemplares de bocinegro (*Pagrus pagrus* L.) por efecto del confinamiento durante los periodos de estabulación.

### **Estrés oxidativo**

El estrés oxidativo se define como los efectos celulares deletéreos que derivan de la producción de especies de oxígeno reactivo (ROS). ROS son moléculas reactivas basadas en  $\text{O}_2$ , como pueden ser el radical anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), el radical hidroxilo (OH), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) o el ozono ( $\text{O}_3$ ).

En células sanas los ROS, o agentes prooxidantes, son detoxificados por defensas antioxidantes incluyendo atrapadores de bajo peso molecular de radicales libre y enzimas antioxidantes específicas. Moléculas hidrosolubles como liposolubles son ejemplos de antioxidantes de bajo peso molecular. La acción de estas moléculas y enzimas conforman un balance entre la producción de prooxidantes y el sistema antioxidante de defensa. Los organismos disponen de un conjunto de antioxidantes endógenos y otros que tienen un origen dietario para la defensa frente a un exceso de ROS. Sin embargo, se pueden dar situaciones en las que hay una marcada producción de dichas especies reactivas prooxidantes y el sistema de defensa puede no ser suficiente, entonces es cuando se produce un incremento en el daño a macromoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando diversos procesos celulares y dando lugar a un estrés oxidativo. Tres de las principales fuentes antioxidantes son las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GP); sin embargo, debe tenerse en cuenta otra serie de enzimas especializadas con funciones indirectamente antioxidantes, como es el caso de la glutatión reductasa (GR) cuya función es regenerar el glutatión a su forma reducida (GSH) y la glutatión-S-transferasa (GST) que participa en el transporte y la eliminación de componentes reactivos y en el sistema de transporte de conjugados con el glutatión. Estas enzimas antioxidantes han sido propuestas como biomarcadores de contaminación mediada por estrés oxidativo y su inducción como una respuesta específica ante la exposición a contaminantes (Ochoa, 2008).

Se ha demostrado que muchos químicos ambientales de diversas clases causan estrés oxidativo en peces marinos y de agua dulce. La gravedad de este estrés puede ser influenciada por factores ambientales como la temperatura, la salinidad, la hipoxia y la acidificación. Por ejemplo, se ha demostrado que una serie de plaguicidas tiene un impacto sobre la actividad de la catalasa, la peroxidación lipídica y la función mitocondrial. (Slaninova, 2009). Muchos xenobióticos inducen la producción de ROS por varios mecanismos bioquímicos como el deterioro del transporte de electrones ligado a la membrana, el ciclo redox, la inactivación de enzimas antioxidantes... (Di Julio, 2008).

El daño oxidativo induce en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos. La formación de lípidos modificados por oxidación puede causar disfunción celular e incluso muerte neuronal. La peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares, inicia un deterioro acumulativo de las funciones

membranales y provoca disminución en la fluidez, reducción en el potencial electroquímico y el aumento de la permeabilidad de la membrana. La oxidación causa alteraciones en la estructura de algunas proteínas y la formación de Agregados proteínicos, estas proteínas anormales están presentes en las enfermedades neurodegenerativas. (Dorado et al 2003). El aumento en los niveles ROS induce la expresión de genes cuyos productos tienen actividad antioxidante, como son las enzimas antioxidantes que contribuyen al mantenimiento de la homeostasis redox (Sevcikova, 2001)

Existen muchos biomarcadores de estrés oxidativo que permiten la determinación y cuantificación del daño producido a nivel de tejidos, células y macromoléculas (determinación de peróxidos de lípidos, daños a las bases del ADN, y daño a proteínas) o cambios en los niveles de expresión de los genes que forman parte de las respuestas ante el estrés (Mañón *et al.*, 2016).

También los metales son inductores de estrés oxidativo en muchas especies de peces, promoviendo la formación de especies reactivas de oxígeno a través del ciclo redox o la interacción con las defensas antioxidantes, especialmente con el tiol que contiene antioxidantes y enzimas. (Sevcikova, 2001).

### **Estrés térmico**

La temperatura es un factor que afecta directamente al metabolismo de los peces. A medida que aumenta la temperatura también incrementa la tasa metabólica, y viceversa. Al incrementarse la tasa metabólica también lo hace la demanda energética, por lo cual, el organismo consume una mayor cantidad de alimento, provocando que la tasa de crecimiento también se vea incrementada. Esto sucede hasta un determinado momento, en el cual la temperatura es óptima para que el organismo tenga su mayor tasa de crecimiento. A partir de ese punto, desde que la temperatura aumente, la tasa metabólica y consumo de alimento seguirán en aumento, pero la tasa de crecimiento comenzará a disminuir, ya que, aunque el organismo consuma una mayor cantidad de energía, ésta no será utilizada para el crecimiento, sino para satisfacer las necesidades de un metabolismo acelerado (Martínez *et al.*, 2009).

Cuando la temperatura aumenta de manera rápida, los peces incrementan su movilidad y ritmo respiratorio, y posteriormente sobreviene la “pérdida de equilibrio”. Este fenómeno se caracteriza por una arritmia respiratoria y la falta de coordinación motriz. Cuando se produce

el cese total de los movimientos operculares, se produce finalmente la muerte. Cualquiera de estos dos puntos, tanto pérdida de equilibrio como la muerte, pueden considerarse como el “máximo térmico crítico”. También se ha constatado que un aumento de unos 5 grados sobre la temperatura ambiente a la que se encuentra el organismo, desencadenaría una rápida síntesis de entre el 15 y el 25% de proteínas de choque térmico (Gómez, 2014).

La temperatura es un factor que afecta directamente a la solubilidad de los gases en el agua en general, y del O<sub>2</sub> en particular. Disminuyendo la solubilidad de este último cuando aumenta, convirtiéndolo entonces en un factor limitante. Es conocido, por ejemplo, que las truchas son exigentes en cuanto a la cantidad de oxígeno disuelto en el agua, y a mayor temperatura menor es la disolución de este gas, por lo tanto las temperaturas altas del agua son causa importante del estrés de estos animales (Martínez *et al.*, 2009).

### **Sistema de respuesta ante el estrés**

Los peces responden al estrés mediante un sistema coordinado de ejes que relaciona los sistemas nervioso y endocrino, los cuales se retroalimentan como medida de control. Estos sistemas van a actuar sobre los efectores correspondientes para desencadenar la respuesta fisiológica.

### **Ejes de respuesta**

#### ***Eje HPI y eje HSC***

Mientras en los vertebrados homeotermos (mamíferos) el conjunto de órganos implicados en la respuesta ante situaciones de estrés se denomina eje HPA (eje hipotálamo-pituitaria-adrenal), en los peces, el conjunto de órganos que responden ante el estrés es denominado HPI (eje hipotálamo-pituitario-interrenal). Esto es debido a que no poseen una glándula adrenal compacta, sino un conjunto difuso de células interrenales embutidas en la porción anterior del riñón (Barandica, 2010).

Por otro lado, en los peces también existe un segundo eje fisiológico implicado en el conjunto de la respuesta a los factores estresantes: el eje Hipotálamo Simpático Cromafín

(HSC). En este eje, se produce la síntesis y liberación de catecolaminas, adrenalina y noradrenalina, que están estimuladas por las fibras colinérgicas del sistema simpático (Figura 2). Las catecolaminas son sintetizadas en la pared de la vena cardinal posterior en la región del riñón anterior (Reid Bernier y Perry 1998), y activan respuestas de tipo cardiovascular, respiratoria y metabólica, dirigidas a mitigar los efectos de estresantes agudos. Este sistema de respuesta es inmediato tras percibirse el estímulo, mientras que la liberación de las hormonas glucocorticoides sufren un leve retraso de minutos.(Perry, et al. 2004).

La hormona liberadora de la corticotropina (CRH) es la hormona iniciadora de la activación del eje HPI, siendo liberada por neuronas hipotalámicas de la región pre-óptica. En peces se ha encontrado junto a otra hormona, la hormona liberadora de la tiroides (TRH). Ambas hormonas estimulan la liberación de la hormona adenocorticotropa (ACTH) desde la parte anterior de la pituitaria, induciendo así la producción y liberación del cortisol por las células interrenales (Pepels, *et al.* 2002).

Estudios en el campo de la fisiología comparativa del estrés, sugieren que el factor liberador de la corticotropina (CRF) juega un papel clave en la regulación e integración de los sistemas neuroendocrino, autónomo, inmune y del comportamiento como respuesta a estímulos estresantes (Barandica, 2010). El aumento de la CRF provoca la liberación de otras hormonas como endorfinas y los péptidos derivados de la pro-opiomelanocortina (POMC). Tanto la ACTH como endorfinas y melanotrofinas derivan de un precursor común, la POMC, y son sintetizados por dos tipos celulares: las células corticotrofas, que secretan como principal producto la ACTH; y las hormonas estimulantes de los melanocitos ( $\alpha$ -MSH y  $\beta$ -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 células, secretándose hormonas específicas para cada caso. Como por ejemplo ante un cuadro hemorrágico se activan las neuronas liberadoras de oxitocina (Pepels, *et al.* 2004).

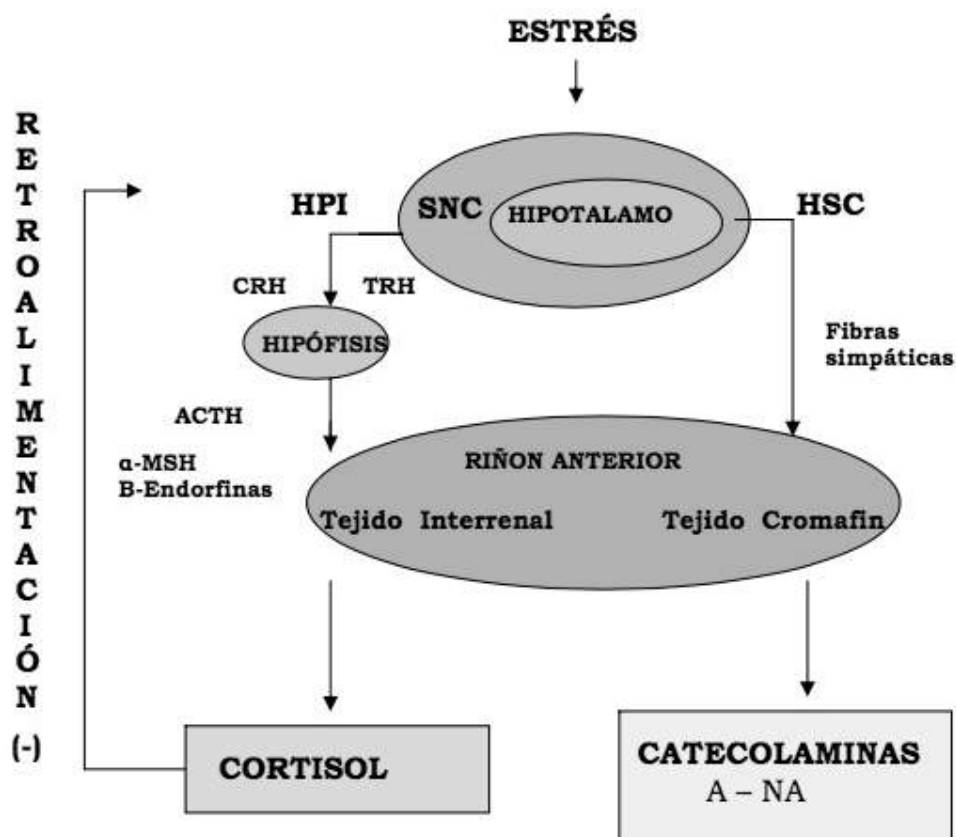


Figura 2. Esquema de la relación existente en la respuesta a un estímulo estresante (Modificado de Tort, *et al.* 1998).

### *Acciones del cortisol*

El cortisol es el principal corticosteroide de los teleosteos y sus concentraciones se elevan marcadamente en situaciones de estrés. 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.

El cortisol tiene efectos catabólicos sobre las proteínas, carbohidratos y lípidos, con finalidad movilizadora de reservas. Su acción metabólica es realizada a través de mecanismos rápidos, no genómicos o mecanismos lentos con modificación genómica, de duración más prolongada, siendo más accesibles experimentalmente. También es responsable por la disminución de la inmunidad observada en peces estresados: disminución de la quimiotaxia, fagocitosis y producción de óxido nítrico en los leucocitos, actividades importantes en los procesos inflamatorios marcada disminución de los linfocitos, que puede alcanzar hasta el 60

%. Durante el transporte y manejo de peces existe disminución de linfocitos B en la circulación y aumento de los linfocitos T (Alvarellos *et al.*, 2002).

### ***Eje somatotrófico***

La GHRH (hormona liberadora de la hormona del crecimiento) y la somatostatina, son sintetizadas por el hipotálamo, y ambas regulan la síntesis y liberación de la hormona del crecimiento (GH), estimulando e inhibiendo, respectivamente. Otras hormonas también son las responsables de estimular la liberación de GH de una manera indirecta.

El estrés puede reducir el crecimiento de los peces. Los resultados de algunos experimentos de Barton (1987) demostraron que el estrés agudo tenía escasos efectos en el crecimiento de los peces. Pero MC Cormick *et al.* (1998) sí señalaban que el estrés de manejo diario redujo significativamente la talla de salmones. También se encontraron con que estos individuos que presentaban síntomas de estar estresados mostraban niveles elevados de GH, lo que interpretaron como una participación de esta hormona para atender las demandas energéticas elevadas del estrés.

Cuando el individuo percibe un estímulo estresante, existe un rápido aumento de GH por activación de vías adrenérgicas para una rápida movilización de energía. Esto es seguido de una caída, que dependiendo del tipo de estrés puede mantener niveles bajos de hormonas por algún tiempo. Muchos de los efectos de GH son realizados indirectamente vía IGF-1, hormona producida en el hígado por la estimulación directa de GH. Ambas hormonas actúan juntas controlando el crecimiento del cartílago y el desarrollo de tejidos hematopoyéticos (Carroll *et al.*, 1998).

Tanto GH como IGF-1 son propuestos como hormonas antiestrés, contrarrestando la inmunosupresión provocada por los esteroides adrenales. En situaciones en las que se produce un estrés intenso, las hormonas somatogénicas puedan reparar la función inmune. IGF-1 actúa aumentando el número de linfocitos T y B, que determina el aumento de tamaño de órganos como bazo y timo. (Flores Quintana, 2002)



### ***Eje prolactínico***

La prolactina (PRL) muestra unas ciertas semejanzas estructurales con GH, sobretodo en regiones específicas, lo que sugiere que deriven de un gen ancestral común (Nicoll, 1993), presentando incluso algunas acciones metabólicas compartidas, como el aumento de síntesis proteica, el crecimiento del cartílago y la acción diabetógena. Es reconocida como inmunomoduladora y se ha observado que en la hipoprolactinemia hay una importante disminución de linfocitos (Clark, 1997).

PRL juega un papel fundamental como promotora de la adaptación a ambientes hiposmóticos, jugando un papel importante en teleósteos de agua dulce, contribuyendo a su equilibrio hidromineral (Manzon, 2002). Auperim *et al.* (1997) demostraron que tanto el cortisol como la PRL aumentan en casos donde se producen cambios en la osmolaridad del agua. Y aunque Pottinger *et al.* (1992) describieran que ante la misma situación ocurría una disminución de ambas, estas diferencias posiblemente se deban al tipo de estrés o condiciones de temperatura que modifican la respuesta de PRL. En teleósteos, la PRL es clave en procesos de ósmosis en branquias, estimulando la secreción de mucus e incrementando el tamaño del estrato mucoso para así evitar una entrada excesiva de agua. También disminuye la permeabilidad del epitelio renal y aumenta la diuresis. Además la prolactina y GH estimulan la actividad de las células NK y la fagocitosis, mientras que hormonas del eje HPA la disminuyen. (Flores Quintana, 2002).

### ***Eje tirotrófico***

La hormona tirotrófica (TSH) se produce en la hipófisis y estimula la glándula tiroides para secretar T3 y T4, que son unos potentes reguladores metabólicos.

El estrés agudo puede aumentar como disminuir TSH, dependiendo de la especie y condiciones experimentales. Por ejemplo, estrés nutricional o situaciones de aumento de cortisol, provocan una disminución de TSH. Esto demuestra una tendencia adaptativa de la respuesta, permitiendo direccionar las modificaciones metabólicas. (Flores Quintana, 2002)

### ***Eje gonadotrófico***

Las gonadotrofinas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), secretadas por la hipófisis, son positivamente reguladas por el factor de liberación de las gonadotrofinas (GnRH), producido por el hipotálamo y controlado por la dopamina en muchos teleósteos (Weltzien *et al.*, 2004). Se conoce que las situaciones de estrés afectan al proceso reproductivo. Aunque no está totalmente claro el nivel de la cascada que se ve afectado. Los primeros trabajos *in vitro* sugirieron que el incremento en los niveles de cortisol circulante actúa directamente sobre la estereoidogénesis gonadal, y trabajos posteriores muestran al cortisol como estimulante algunas veces e inhibitoria en otras (Schreck *et al.*, 2001).

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. El estrés afecta a este eje debido a que la elevación de vasopresina, ACTH y CRH, producen una disminución de GnRH. Los glucocorticoides elevados pueden ejercer influencias por modificar la sensibilidad a FSH y LH en sus respectivos órganos blancos y suprimir los procesos endocrinos que actúan sobre la maduración sexual, disminuyendo los niveles de testosterona, el tamaño de gónadas y por tanto, afectando el índice gonadosomático. Además se ve afectada la síntesis de vitelogenina debido a la reducción de receptores para estrógenos en el hígado. (Flores Quintana, 2002).

### **Respuesta primaria, secundaria y terciaria**

Las distintas respuestas ante el estrés se clasifican en tres grupos. Las respuestas primarias son las que involucran a los parámetros bioquímicos, estudiados en muestras de hormonas en el plasma e hispatológicas (McCormick *et al.*, 1998).

Para que pueda darse la respuesta primaria, primero se han de activar los centros nerviosos tras la percepción de los estímulos estresantes. Esto ocurre mediante la activación de los sistemas sensoriales (receptores primarios), que envían información a los centros de control, en concreto los localizados en el área preóptica y el hipotálamo. Así se produce una rápida activación del sistema nervioso simpático, cuyas neuronas inervan el tejido cromafín a través de receptores colinérgicos (Reid *et al.*, 1996). Esto conforma una vía neuroendocrina denominada eje hipotalámico-simpático-cromafín (HPC), que es el encargado de la liberación

de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y dopamina) de una manera rápida y masiva al torrente sanguíneo. Al mismo tiempo, aunque de manera más ralentizada se activa el eje hipotalámico-hipofisiario-interrenal (HPI). En él actúan neurotransmisores como la serotonina, la dopamina o la noradrenalina, y también neurohormonas. De estas últimas destaca la hormona o factor liberador de corticotropina (CRF), que actúa sobre la hipófisis anterior estimulando la secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH), a la sangre. La ACTH actúa sobre el tejido interrenal y así promueve la liberación de cortisol al torrente sanguíneo. Unos niveles elevados de catecolaminas y cortisol en la circulación son considerados como típicos representantes de la respuesta primaria al estrés. Usados para preparar al animal para una posible huida, enfrentamiento o cualquier reacción para evadir o reducir el efecto del agente estresor. (Gesto *et al.*, 2013)

La liberación de catecolaminas al torrente sanguíneo es rápida, mientras que la síntesis del cortisol es algo más lenta (Lankford *et al.*, 2003). Por ello, debido a que los procedimientos de muestreo en sangre son invasivos y estresantes, se hace difícil usar las concentraciones de catecolaminas en plasma como una medición del estrés en peces. En cambio, al ser un poco más lento el proceso de formación de cortisol, hace que éste sea un indicador de estrés más útil. Los indicadores plasmáticos como el cortisol, la glucosa, la hemoglobina y los hematocritos podrían incrementarse desde 15 minutos a 4 horas en respuesta a captura, manejo o transporte (Robertson *et al.* 1998).

La respuesta primaria al estrés puede provocar una respuesta secundaria, es decir, cambios fisiológicos (incrementos en plasma de glucosa, lactato y hematocrito, incremento del ritmo cardiaco, incremento del flujo de sangre en las branquias; y también disminución de cloruros en plasma, disminución de sodio y de potasio, disminución de glucosa en el hígado y disminución de proteína muscular). Las respuestas secundarias generalmente aparecen en un intervalo de tiempo que va desde de un par de minutos hasta una hora. Estos cambios duran un período de tiempo más largo en comparación con el tiempo de incremento de catecolaminas, y ayudan al pez a movilizar sus reservas para satisfacer las nuevas demandas energéticas (Barton *et al.* 2002).

La hiperglucemia después de un evento de estrés, resulta en parte de la estimulación de la glucogenólisis por parte de las catecolaminas, con la misión de satisfacer las demandas de incremento de energía para poder huir o responder ante un ataque (Mazeaud, 1981), mientras que el cortisol es importante para mantener, a largo plazo, los niveles de

hiperglucemia después de que el efecto de las catecolaminas haya desaparecido (Barton y Iwama 1991). Además las catecolaminas tienen la misión de regular ciertas funciones respiratorias y cardiovasculares, incluyendo el flujo sanguíneo o la permeabilidad de las branquias (Randall y Perry 1992).

Acompañando a las catecolaminas, el cortisol es también el responsable de las preparaciones fisiológicas para combatir los agentes estresantes. Un incremento del cortisol en plasma conduce a un amplio abanico de respuestas fisiológicas secundarias en peces, incluyendo el estímulo de cambios metabólicos y osmorregulatorios, e inmunosupresión después del reconocimiento de un factor estresante. (Barton y Iwama 1991). Aunque por otro lado, un aumento de corticosteroides en sangre puede anular la respuesta inmune no específica. (Ortuño *et al.*, 2001). (Figura 3).

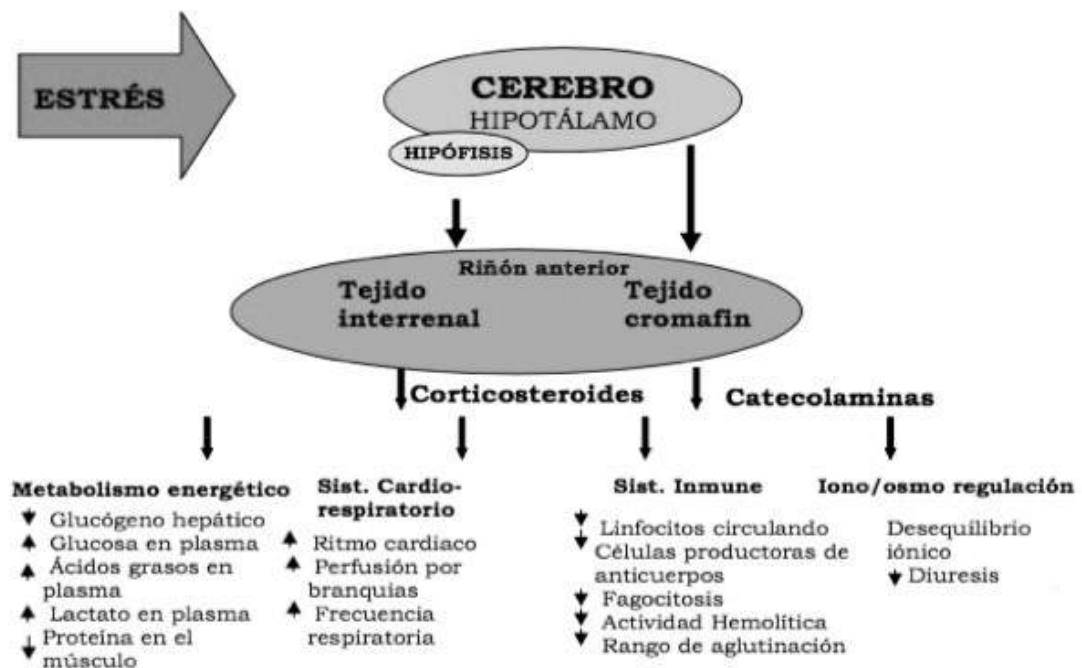


Figura 3: Respuesta secundaria al estrés, donde se observa como afecta la actividad y fisiología del sistema neuroendocrino, cardio-respiratorio e inmune y el metabolismo y la regulación corporal (Tort, *et al.* 1998). Modificado.

La respuesta secundaria puede como última estancia activar una respuesta terciaria ante el estrés. Esta respuesta está relacionada con eventos de estrés crónico, aunque perduren en el tiempo en bajos niveles. Aunque exista una leve compensación, este estrés puede acabar provocando una disminución en el rango de crecimiento, reduciendo el alcance de la actividad metabólica, disminuyendo la resistencia a enfermedades, reduciendo la capacidad reproductora, así como alterando la conducta y supervivencia de los individuos estresados, o incluso causando problemas en la gestión energética del organismo (Barton y Iwama 1991). Las respuestas terciarias también se extienden al nivel de organismo y población: inhibición del crecimiento, problemas en la reproducción, perturbación del sistema inmune y disminución de la tolerancia a nuevas situaciones de estrés. (Figura 4) La duración de la respuesta terciaria está directamente relacionada con la severidad y duración del agente estresor.

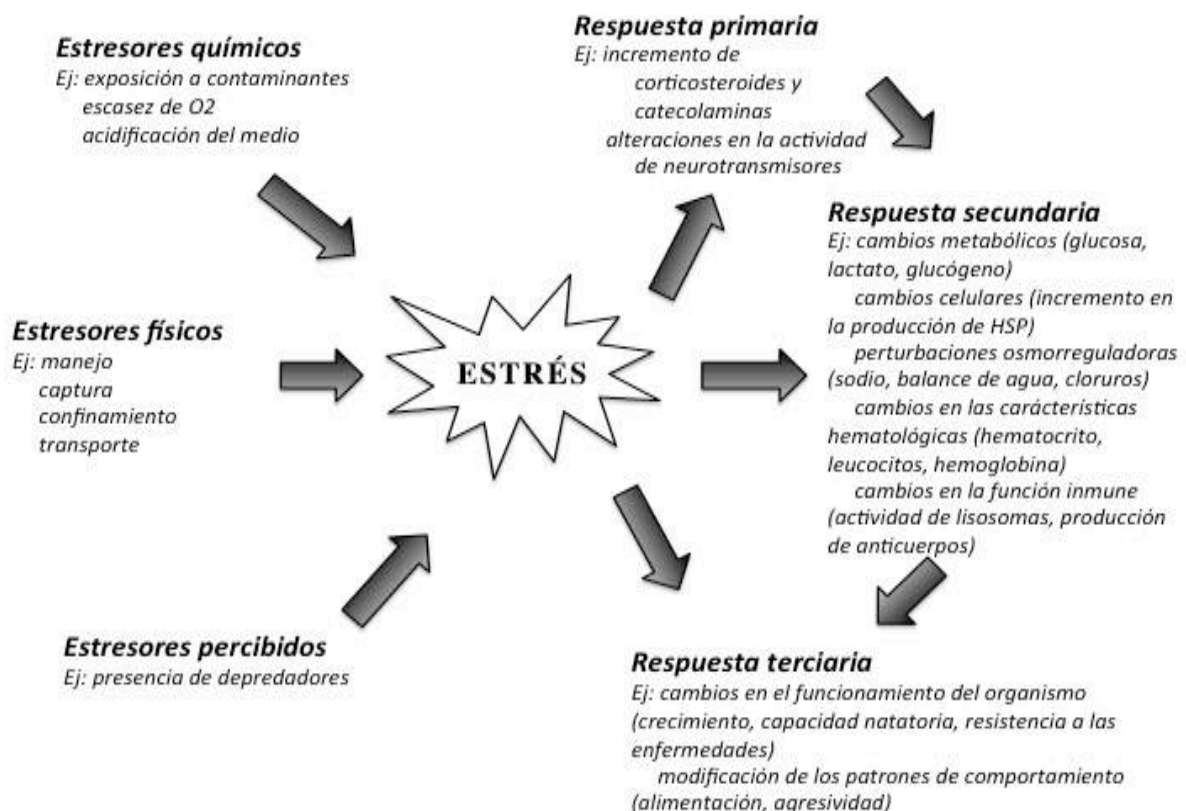


Figura 4: Tipos de respuestas fisiológicas a estrés frente a distintos estímulos. (Tort *et al.*, 1998). Modificado.

### **Indicadores del estrés**

#### **Indicadores neuroendocrinos (Adrenalina y cortisol)**

Para poder medir el estrés en los peces se usan distintos parámetros. Los más utilizados son los indicadores de respuesta primaria. Entre ellos encontramos indicadores neuroendocrinos como la adrenalina y el cortisol que son los causantes de cambios casi inmediatos a nivel cardiovascular y metabólico. El cortisol está más relacionado con estresantes crónicos, como parte final del eje HPI (Barrandica, 2008).

#### **Índices metabólicos de respuesta secundaria**

Los parámetros hematológicos y metabólicos (niveles de glucosa, de lactato, de iones del plasma, de transaminasas) y metabólicos, son herramientas para medir la fase de resistencia ya que responden a la acción del cortisol y las catecolaminas (Rotlant, *et al.* 2000).

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. En situaciones de estrés agudas, se produce un incremento en la demanda de energía y mediante la vía anaerobia, se eleva la producción de lactato. Sin embargo, los estresantes crónicos y de poca intensidad no inducen cambios en los niveles de lactato plasmático. La osmolalidad y el balance en los niveles de iones, son indicadores plasmáticos que son también modificados por la acción de las catecolaminas y el cortisol. (Rotlant, *et al.* 2000a; Tort, *et al.* 1994).

La adrenalina produce desequilibrio en los iones y en los niveles del agua produciendo hinchamiento de las células sanguíneas, modificando el número y tamaño de las células, y con ello el valor hematocrito, ya que hay mayor demanda de oxígeno. Esto ocurre especialmente durante el estrés agudo, donde se observan cambios significativos en los valores hematológicos o en el número de glóbulos rojos (Nikinmaa, *et al.* 1982).

#### **Proteínas de shock térmico (Hsp) como indicadores de estrés**

En la respuesta de estrés celular también interviene una familia de proteínas denominadas proteínas de choque térmico (Hsp). Las Hsp son una familia de proteínas

celulares altamente conservadas que han sido observadas en todos los organismos (Feder y Hofmann, 1999), incluyendo peces (Iwama *et al.*, 1998). Las Hsp ayudan a la célula a conservar o degradar las proteínas desnaturalizadas, uniéndose a ellas para evitar que se agreguen, marcándolas para luego destruirlas, o manteniendo las cadenas de polipéptidos desplegadas en un estado competente, para que una vez que el estrés haya cedido, puedan volver al plegamiento inicial, recuperar su conformación tridimensional y por lo tanto recuperar su función. Las Hsp aumentan en cualquier situación estresante para un organismo, es decir, en cualquier condición que supera las fluctuaciones normales de las funciones vitales (homeostasis), por ejemplo con los aumentos o disminución de temperatura, con cambios en la presión osmótica, con presencia de tóxicos, con aumento de presión, con cambios en el pH... Por ello el nombre adecuado debería ser el de proteínas de respuesta al estrés. Sin embargo, en la literatura científica predomina la denominación de proteínas del choque térmico (Coronato, 1999).

Estudios extensivos sobre especies modelo han revelado tres familias principales de Hsp: Hsp90 (85-90 kDa), Hsp70 (68-73 kDa) y de bajo peso molecular, Hsp (16-24 kDa). En la célula no estresada, existe una producción constitutiva de estas proteínas que se requieren en diversos aspectos del metabolismo proteico para mantener la homeostasis celular. Se sabe que la Hsp70 ayuda al plegamiento de las cadenas polipeptídicas nacientes, actúa como una chaperona molecular y media la reparación y degradación de proteínas alteradas o desnaturalizadas. Hsp90 es activo en el soporte de varios componentes del citoesqueleto, enzimas y receptores de hormonas esteroides. Las Hsp de bajo peso molecular tienen diversas funciones que son específicas de la especie y a diferencia de otras Hsp, estas proteínas no tienen función constitutiva conocida y parecen ser inducidas solamente durante el estrés (Fink y Goto, 1998).

Las proteínas de choque térmico son muy prometedoras como biomarcadores de estrés generalizado en poblaciones expuestas a contaminantes ambientales, patógenos o mala calidad del agua. Las medidas actuales de estrés en los peces, tales como el aumento de las concentraciones plasmáticas de glucosa y cortisol, pueden ser muy influenciadas por los procedimientos de manejo humano, mientras que los cambios en los niveles de Hsp70 en los tejidos no lo son (Coronato, 1999).

### **Ácidos grasos como indicadores de estrés**

Los lípidos en general y los ácidos grasos en particular, son metabolitos clave en muchas funciones biológicas. Actúan como componentes estructurales de las membranas celulares, como fuente de energía, y como productos intermedios conocidos en vías de señalización (prostaglandinas), jugando un importante papel en la salud y nutrición animal. Estos lípidos son también son clave para mantener las membranas en un estado fluido necesario para el funcionamiento biológico adecuado, especialmente los ácidos grasos insaturados de cadena larga, que son imprescindibles para las adaptaciones a las bajas temperaturas (D. Thewke *et al.*, 2000).

Los ácidos grasos como componentes importantes de las membranas celulares, son muy sensibles a los factores estresantes. Son unos bioindicadores muy útiles para la determinación de los efectos de agentes contaminantes químicos (por ejemplo, metales y pesticidas). La biosíntesis de estos ácidos grasos se interrumpe a nivel de los procesos de desaturación y elongación. En la mayoría de los estudios revisados con peces marinos, fueron puestos de manifiesto una disminución en el nivel de ácidos grasos poliinsaturados de las series n-3 y n-6, y un aumento significativo del nivel de ácidos grasos saturados después de la exposición a metales pesados y contaminantes orgánicos procedentes del vertido industrial (Filiminova, *et al.*, 2016). Por otra parte, la cantidad de ácido eicosapentenoico (EPA) y docosahexanoico (DHA) en la trucha marrón (*Salmo trutta*) disminuyó debido a la mayor oxidación de estos ácidos poliinsaturados HUFA omega-3 después de ser expuestos al herbicida Roundup® (Bayir *et al.*, 2013).

### **Metalotioneínas como indicadores de estrés**

Las metalotioneínas constituyen una familia de metaloproteínas ricas en cisteína, siendo generalmente de bajo peso molecular. Se encuentran en el aparato de Golgi de las células en los vertebrados, y a través de los grupos tiol (-SH) de sus residuos de cisteína tienen la capacidad de unirse a metales pesados tanto fisiológicos (zinc y cobre) como xenobióticos (cadmio, mercurio y plata) (Klaverkamp *et al.*, 1984).

Cuando los peces son expuestos a metales pesados inducen la síntesis de metalotioneínas en los tejidos hepático, renal y branquial. Estas proteínas tienen una función protectora al secuestrar la mayor parte de los iones metálicos libres dentro de la célula,



previniendo su unión a grupos sulfhidrilos de otras proteínas funcionalmente importantes, actuando como un agente quelante del metal para prevenir sus efectos. Por esta razón se proponen como un indicador biológico específico de la contaminación por metales pesados en sistemas acuáticos, indicando si ha habido exposición a estos metales a elevadas concentraciones (Foran *et al.*, 2004).

### **Ritmos de estrés**

Como ya se ha comentado, cuando se produce una situación estresante, el cortisol forma parte de la respuesta primaria del organismo, siendo por lo tanto, uno de los marcadores fisiológicos más importantes de estrés en peces. Pero esto no quiere decir que sólo esté presente ante estas situaciones de estrés, ya que en condiciones normales, los vertebrados presentan ritmos diarios de secreción de cortisol. Existe un íntima relación con una de las funciones de la hormona, que es la de inducir el despertar y preparar al organismo para un periodo de actividad, por lo tanto, los animales diurnos presentan un pico de cortisol a principio del día, y los nocturnos al comienzo de la noche (Villamizar *et al.*, 2011)

Los ritmos de cortisol están muy relacionados con la fase de actividad de la especie en los peces. Además del cortisol, la glucosa y el lactato, muestran sus propias variaciones rítmicas diarias en sangre. La secreción de estos marcadores como respuesta a un agente estresor será más intensa, dependiendo de la hora del día a la que tiene lugar. Por lo que para evaluar el nivel de estrés en peces, hay que tener muy en cuenta los ritmos de los marcadores que vayamos a analizar, y la hora del día a la que se haga la toma de muestras. En *S. senegalensis*, la respuesta al estrés del cortisol plasmático, la glucosa y el lactato fue mayor durante el día que durante la noche, lo que sugiere que estos animales muestran una respuesta diferente a un factor de estrés agudo dependiendo de la hora del día. Las respuestas diferenciales obtenidas entre *A. medirostris* y *S. senegalensis* sometidas a estrés agudo también sugirieron que la sensibilidad diaria a los factores de estrés puede variar dependiendo de las especies de peces. Claramente, se requieren estudios adicionales con otras especies para generalizar esta afirmación (Olmedal *et al.*, 2015).

### **Reductores del estrés**

La acuicultura industrial que maneja grandes poblaciones de organismos en espacios limitados, ha traído consigo la necesidad de estudiar el efecto que estas densidades provoca en los peces, ya que las tasas de crecimiento, los índices de fertilidad y, más aún, la incidencia y frecuencia de enfermedades, están determinadas por la respuesta de los organismos al síndrome general de adaptación ante una situación de estrés. Por ello tras estudiar los efectos que provocan esta situación de cría en los peces, es necesario intentar reducir todos estos factores estresantes al mínimo o, en su defecto, intentar ayudar a poder combatirlos.

Para sobrellevar estos problemas de estrés en peces se ha estudiado el uso de suplementos alimenticios, entre los cuales se encuentran las hormonas, los antibióticos y algunas sales, pero su uso indiscriminado puede ocasionar efectos adversos al animal como: alteraciones hormonales, intoxicación y predisposición a enfermedades (Irianto y Austin, 2002). Una estrategia muy interesante se enfoca al empleo de probióticos (Gatesoupe, 2008). Estos pueden definirse como microorganismos que administrados en la dieta promueven el bienestar de los organismos cultivados por medio de la estimulación del sistema inmune, así como del establecimiento del balance microbiano intestinal mediante la exclusión de microorganismos potencialmente patógenos (Lara *et al.*, 2003).

Es una práctica habitual el uso de antioxidantes en las dietas de los peces para prevenir estas situaciones. Un antioxidante es un compuesto que evita la oxidación de las moléculas, inhibiendo la formación de radicales libres o interrumpiendo su propagación mediante varios mecanismos: atrapando las especies que inician la oxidación, quelando iones metálicos capaces de generar especies reactivas o frenando la reacción en cadena de la autooxidación (Benitez, 2006). Los tejidos de peces son sensibles a sustancias prooxidantes, tanto *in vivo* como *post mortem*, debido al alto grado de poliinsaturación de sus lípidos. La inclusión de antioxidantes naturales en los alimentos tiene un impacto positivo sobre el crecimiento y la mitigación del estrés oxidativo. Como una estrategia para contrarrestar o minimizar estos daños se ha optado por incluir fuentes de antioxidantes naturales en los alimentos para peces, que a diferencia de los sintéticos no tienen efectos secundarios en el organismo (López, *et al.*, 2015).

Los antioxidantes utilizados van desde compuestos fenólicos, algunas vitaminas (A, C y E), compuestos extraídos de plantas, como el licopeno de los tomates, la inulina, extractos de ajo y algunos microorganismos como la levadura rica en astaxantinas. Pan *et al.*, (2011) evaluaron la respuesta antioxidante en pez gota de sangre (*Hyphessobrycones*) mediante parámetros enzimáticos (transaminasas, aminotransferasas...). Estos peces fueron alimentados con piensos adicionados con  $\beta$ -caroteno, astaxantinas y mezcla de ellos. Los resultados muestran que la suplementación de astaxantinas y  $\beta$ -carotenos disminuyen el estrés provocado por amonio, concluyendo que 10 mg de  $\beta$ -caroteno o astaxantinas por kilogramo de alimento son suficientes.

Huerta Jiménez (2005) demostró una mejora en el sistema inmune de peces añadiendo a la dieta un suplemento de vitamina C y E, debido a que constituyen un mecanismo de defensa contra el estrés oxidativo causado por el medio ambiente (concentraciones altas de amonio, bajas de O<sub>2</sub> y temperaturas, estrés osmótico...). La vitamina E intracelular convierte los radicales OH, O<sub>2</sub><sup>-</sup> y LOO en formas menos reactivas, mientras que la vitamina C de ubicación extracelular se encarga de atrapar OH<sup>-</sup> y O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Diversos estudios han reportado que, cuando las reservas enzimáticas se encuentran agotadas, las vitaminas previenen la reacción en cadena de oxidación (Ochoa, 2008).

Uno de los métodos más utilizados es combatir estas situaciones estresantes variando los componentes principales de la dieta de los peces. Estudios realizados en Dorada han demostrado que existe una diferencia de respuesta del cortisol plasmático frente a un estresante agudo, al ser alimentadas con diferentes fuentes lipídicas. Los peces cultivados sin la presencia de un estresante (a baja densidad de cultivo), fueron sometidos a un estrés agudo repetido en el tiempo (5 minutos de persecución con red durante 14 días consecutivos). La respuesta de cortisol plasmático para los peces alimentados con una dieta deficiente en n-3 HUFA siguió un patrón diferente y adquirió mayor intensidad que la observada en los peces alimentados con la dieta rica en n-3 HUFA. Remarcando que un desequilibrio en la producción de eicosanoides que se produce cuando algún ácido graso es deficiente en la dieta o la relación entre los ácidos grasos no es la adecuada, podría influir en la producción de corticosteroides, y por tanto en la respuesta ante el estrés. También se demostró que la deficiencia de ácidos grasos esenciales actúa como un estresante crónico en peces, produciendo una elevación en los niveles basales de cortisol sin mediar la acción de un estresante (Montero e Izquierdo, 2000).

### **Conclusiones**

En la vida de los peces los eventos estresantes son muy comunes, de hecho, son necesarios para que estos animales puedan adaptarse a nuevas circunstancias y así poder sobrevivir. Pero cuando dejan de ser una situación puntual, y se convierten en un evento crónico, dan lugar a problemas tanto fisiológicos como metabólicos. Son muchos los factores que pueden causar una pérdida de la homeostasis, desde cambios físicos o químicos en el medio, interacciones sociales, hasta variaciones en la dieta. Es muy importante desde el punto de vista de la supervivencia, que existan mecanismos de respuesta ya que de esta manera se puede producir una adaptación del organismo ante estas nuevas situaciones. Bajo el punto de vista científico es necesaria la comprensión de los cambios que ocurren en los peces en respuesta a estresores, ya que pueden proporcionarnos indicaciones que ayudan a relacionar la respuestas fisiológicas de los individuos con cambios que se manifiestan a nivel de la población, y que pueden afectar a su salud y supervivencia. Los bioindicadores de estrés son una herramienta útil para demostrar la presencia de factores causantes de estrés y con ello su posible prevención. Y su interpretación adecuada es necesaria para el desarrollo y diseño de programas de monitoreos biológicos.

La acuicultura es el futuro más cercano cuando se habla de consumo de especies acuícolas. Por ello es necesario saber cómo utilizar los recursos disponibles para obtener unos mayores beneficios de esta práctica. Bajo la perspectiva de la investigación es importante conocer todos aquellos parámetros que nos permitan saber cuándo los peces están sometidos a situaciones estresantes. Es muy interesante cómo recientes investigaciones proporcionan nuevos bioindicadores, cuyos parámetros no se ven alterados por el manejo humano como ocurre en el caso del cortisol. También se ha demostrado que el uso de dietas adecuadas que guarden un equilibrio entre sus componentes, mejora la capacidad de respuesta de los peces ante un evento de estrés agudo.

Hacer que una práctica como la acuicultura mejore y pueda tener una mayor eficacia en su producción es uno de los grandes retos de la ciencia actualmente, sin olvidarse del bienestar animal.

### **Conclusions**

In the life of fish stressful events are very common, in fact, they are necessary for these animals to adapt to new circumstances and thus survive. But when they stop being a punctual situation, and become a chronic event, they give rise to both physiological and metabolic problems. There are many factors that can cause a loss of homeostasis, from physical or chemical changes in the environment, social interactions, to variations in diet. It is very important from the point of view of survival, that there are mechanisms of response since this way can produce an adaptation of the body to these new situations. From the scientific point of view, it is necessary to understand the changes that occur in the fish in response to stressors, since they can provide us with indications that help to relate the physiological responses of the individuals with changes that are manifested at the population level, and which can affect your health and survival. Stress bioindicators are a useful tool to demonstrate the presence of stressors and thus their possible prevention. And their proper interpretation is necessary for the development and design of biological monitoring programs.

Aquaculture is the closest future when talking about consumption of aquaculture species. It is therefore necessary to know how to use available resources to obtain greater benefits from this practice. From the perspective of research it is important to know all those parameters that allow us to know when fish are subjected to stressful situations. It is very interesting how recent investigations provide new bioindicators, whose parameters are not altered by the human handling as it happens in the case of cortisol. It has also been shown that the use of adequate diets that balance their components improves the response capacity of fish to an acute stress event.

Making a practice such as aquaculture better and more effective in its production is one of the great challenges of science today, without forgetting animal welfare.

## Bibliografía

- Abdalla A. El-Shebly and Heba Allah M. Gad. Effect of chronic ammonia exposure on growth performance, serum growth hormone (GH) levels and gill histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Microbiol. Biotech. Res.*, 2011, 1 (4):183-197
- Armenta López, G.E., Sumaya Martínez, M.T., Spano-poulos Hernández, M., Balois Morales, R., Sánchez Herrera, M., Jiménez Ruíz, E. (2015). Inclusion of natural antioxidant compounds in fish feeds to counteract oxidative stress. *Revista Bio Ciencias* 3(2): 68-78
- Auró de Ocampo, Ana; Ocampo Camberos, Luis; (1999). Diagnóstico del Estrés en Peces. *Veterinaria México*, octubre-diciembre, 337-344.
- 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.
- Barnes, R., King, H., & Carter, C. G. (2011). Hypoxia tolerance and oxygen regulation in Atlantic salmon, *Salmo salar* from a Tasmanian population. *Aquaculture*. 318 (3- 4): 397-401.
- Barton BA (2002) Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrat Comp Biol* 42:517-525
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu Rev Fish Dis* 1:3-26
- Barton, B. A., Rahn, A. B., Feist, G., Bollig, H. and Schreck, C. B. (1998) 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., Schreck, C., Barton, I., 1987. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress responses in juvenile rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 2: 173-185.
- Bayne, C.J. y Levy, S. (1991). The respiratory burst of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), phagocytes is modulated by sympathetic neurotransmitters and the neuropeptide ACTH. *J Fish Biol*, 38(4), 609-619.
- Bernier, N. J. (2006) The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *General and Comparative Endocrinology* 146, 45-55.
- Bly, J. E., Quiniou, S. M. A. and Clem, L. W. (1997) Environmental effects on fish immune mechanisms. *Fish Vaccinology* 90, 33-43.
- Castillo, J., Teles, M., Mackenzie, S. y Tort, L. (2009). Stress-related hormones modulate cytokine expression in the head kidney of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Shellfish Immun*, 27(3), 493-499.
- Claudia Dorado Martínez, Concepción Rugerío Vargas, Selva Rivas Arancibia. Estrés oxidativo y neurodegeneración 2003. *MG Rev Fac Med UNAM* Vol.46 No.6.
- Chrousos, G. P. 1998. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 851:311- 335).
- Di Giulio RT, Meyer JN (2008) Reactive oxygen species and oxidative stress. In: Di Giulio RT, Hinton DE (eds) *The toxicology of fishes*. CRC Press/Taylor and Francis Group, Boca Raton, pp 273-324
- 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.

## BIBLIOGRAFIA

---

Benítez Zequeira, Daniel Eugenio. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(2)

FAO. 2016. El estado mundial de la pesca y la acuicultura (2016). Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.

Foran, J.A.; Hites, R.A.; Carpenter, D.O.; Hamilton, M.C.; Mathews-Amos, A.; Schwager, S.J. (2004) "A survey of metals in tissues of farmed atlantic and wild pacific salmon". *Environmental Toxicology and Chemistry*. **23**: 2108-10.

Huerta Jiménez, Mariana; Ortega Cerrilla, María Esther; Cobos Peralta, Mario; Herrera Haro, José G.; Díaz Cruz, Antonio; Guinzberg Perrusquía, Raquel; (2005). Estrés oxidativo y el uso de antioxidantes en animales domésticos. *Interciencia*, diciembre, 728-734.

Iwama, G. K. (1991) Interactions between aquaculture and the environment. *Critical Reviews in Environmental Control* 21, 177-216.

Jobling, M. (1997). Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. In: Seminar Series-Society for Experimental Biology. 61: 225-254.

Jose Fernando López-Olmeda, Luisa María Vera y Francisco Javier Sánchez-Vázquez. (2015). Cronobiología de peces y sus aplicaciones en acuicultura. *Revista Eubacteria. Especial de Cronobiología*. No 33. 2015. ISSN 1697-0071.

Klaverkamp JF, McDonald WA, Duncan DA, Wageman R. Metallothionein and acclimation to heavy metals in fish. A review. In: Cairns VW, Hodson PV, Nriagu JO, editors. *Contaminant effects on fisheries*. New York: Wiley and Sons, 1984:99-113.

Daniel Eugenio Benítez. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo. *Zequeira Rev Cubana Invest BIomed*. 2006, 25(2).

Martínez, M., Martínez, L. & Enríquez, R. (2009). Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. 4 (2): 158- 178.

Mazeaud MM, Mazeaud F (1981) Adrenergic responses to stress in fish. In: Pickering AD (ed) *Stress and fish*. Academic Press, New York, pp 49–75

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.

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. *MEDICINA* (Buenos Aires) 1999; 59: 477-486

Montero, D. y M. S. Izquierdo. 2000. Efecto de los lípidos dietéticos en la salud y resistencia al estrés en peces. Pp 282-297

Ochoa, DM; González, JF; (2008). Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, . 115-126.

Ortuño, J., Cuesta, A., Angeles Esteban, M. and Meseguer, J. (2001) 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.

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.

## BIBLIOGRAFIA

---

- Pepels, P. 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., Boijink, 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.
- R. Laiz-Carrión, Randall DJ, Perry SE (1992) Catecholamines. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology*, vol 12B. Academic Press, New York, pp 255–300
- Raul Laiz-Carrion, Susana Sangiao-Alvarellos, JoseM.Guzman Maria P. Martin del R Jesus M. Miguez ,Jose L. Soengas and Juan M. Mancera. Energy metabolism in fish tissues related to osmoregulation and cortisol action.. *Fish Physiology and Biochemistry* 27:179–188, 2002.
- 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
- Rotllant, J., Arends, R. J., Mancera, J. M., Flik, G., Bonga, S. E. W. and Tort, L. (2000) 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.
- Schreck, C. 1981. Stress and compensation in teleostean fishes: Response to social and physical factors. In: *Stress and Fish*, Pickering ed. 295-321.
- Selye, H. 1973. The evolution of the stress concept. *Am. Sci.* 61: 692–699
- Selye, H. 1985. Stress: Eustress, distress and human perspectives. In: Day, S. (ed). *Life stress*. Vol III. Van Nostrand Reinhold, Cincinnati.
- Sevcikova M, Modra H, Slaninova A, Svobodova Z (2011) Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. *Vet Med* 2011:537–546
- Silvia coronato, Wanda di Girolamo, Margarita Salas, Osvaldo Spinelli, Graciela Laguens. *Biologia de las proteinas del shock termico, medicina (buenos aires)* 1999; 59: 477-486
- Slaninova, Andrea, Miriam Smutna, Helena Modra, Zdenka Svobodova (2009) A review: oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuro Endocrinol Lett* 30(Suppl 1):2–12.
- 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.
- Thomas, P. and L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. *Aquaculture* 96:69–86.
- Tort, L. (1998) Stress and immunosuppression in fish. *Trends in Comparative Biochem. & Physiol.* 5, 17-29.
- Tort, L., Balasch, J. and MacKenzie, S. (2003) Fish immune system. A crossroads between innate and adaptative responses. *SEI* 22, 277-286.
- 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.
- Villamizar N, Blanco-Vives B, Migaud H, Davie A, Carboni S, Sánchez-Vázquez FJ (2011) Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: A review. *Aquaculture* 315:86-94.
- Wedemeyer GA, McLeay Dj. Methods for determining the tolerance of fish to environmental stresses. In:



## BIBLIOGRAFIA

---

Pickering PD, editor. Stress and fish. New York: Academic Press, 1981:247-275.

Wilfredo Mañon Rossi, Gabino Garrido, Alberto J. Núñez Sellés. Biomarkers of oxidative stress in antioxidant therapy. 2016 Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 4(2), 62-83