

CORTISOL: FUNCIONS I IMPORTÀNCIA DEL RECEPTOR GLUCOCORTICOIDE. UNA VISIÓ COMPARADA

LAURA ACERETE, SIMON MACKENZIE I LLUÍS TORT

Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Laura Acerete. Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Biociències. 08193 Bellaterra. Adreça electrònica: laura.acerete@uab.es.

RESUM

Les hormones corticoesteroides són essencials per a la regulació d'una gran varietat de processos fisiològics. El cortisol és el principal corticoesteroide en peixos teleostis, amb funcions glucocorticoïdes i mineralocorticoïdes. És el principal indicador de la resposta a l'estrès, i la principal hormona en el control de l'osmorregulació en peixos, especialment per a l'adaptació a l'aigua marina. També intervé en la regulació de la resposta inflamatòria inhibint la producció de citocines després d'una infecció experimental per l'endotoxina dels bacteris gramnegatius o LPS. Una infecció experimental per LPS desencadena una reacció immunitària innata que activa una resposta inflamatòria. Les citocines produïdes en resposta a aquesta infecció activen l'eix hipotalàmic-pituitari-interrenal (HPI) mitjançant l'activació de l'hormona adrenocorticotropa (ACTH) i l'alliberació de cortisol. També, els efectes de les hormones corticoesteroides estan regulats a través de receptors intracel·lulars específics que actuen com a factors de transcripció dependents del lligand i activen diferents gens implicats en la resposta a l'estrès. Aquests receptors són el receptor de tipus I o receptor mineralocorticoide (MR) i el receptor de tipus II o receptor glucocorticoide (GR). Per tant, la comunicació neuroimmunoendocrina en els vertebrats és crucial per a mantenir l'homeòstasi i el receptor de cortisol hi té un paper clau.

Paraules clau: glucocorticoide, receptor, teleosti, immune.

SUMMARY

Corticosteroid hormones are essential for the regulation of a wide variety of physiological processes. Cortisol is the most important corticoesteroid in teleost fish, with glucocorticoid and mineralocorticoid functions. It is the principal indicator of stress response, and it is the main hormone in osmoregulation in fish, especially in seawater adaptation. It also participates in the regulation of the inflammatory response inhibiting the production of cytokines after an immune challenge by the endotoxin of gramnegative bacteria or LPS. An experimental infec-

tion by LPS unleash an innate immune reaction that activates an inflammatory response. The cytokines produced in response to exposure to LPS are also involved in the activation of the hypothalamic-pituitary-interrenal axis (HPI) through the activation of the adrenocorticotropin hormone (ACTH) and the cortisol release. On the other hand, the effects of corticosteroid hormones are mediated through intracellular receptors that act as ligand-dependant transcription factors and activate different genes involve in the stress response. These receptors are the receptor type I or mineralocorticoid receptor (MR) and the receptor type II or glucocorticoid receptor (GR). Therefore, the neuro-immune-endocrine communication in vertebrates is crucial to maintain the homeostasis and the cortisol receptor plays a key role.

Keywords: glucocorticoid, receptor, teleost, immune.

INTRODUCCIÓ

Hormones corticoesteroides

Malgrat que en els vertebrats els òrgans i les molècules implicades en la secreció de corticoesteroides són essencialment els mateixos, hi ha algunes diferències entre mamífers i peixos. Així, les glàndules suprarenals a l'ésser humà es troben als pols superiors d'ambdós ronyons (Guyton, 2002) i estan formades per: medulla suprarenal (o teixit cromafi) que produeix catecolamines (adrenalina i noradrenalina) com a resultat de l'estimulació simpàtica i escorça suprarenal o corticoadrenal que produeix diferents hormones corticals o corticoesteroides, sintetitzades a partir del colesterol. Les principals hormones corticoesteroides secretades per l'escorça suprarenal són els glucocorticoides (cortisol, cortisterona, cortisona, prednisona, metilprednisona i dexametasona), els mineralocorticoides (aldosterona, desoxicorticosterona i corticosterona) i els esteroides sexuals (andrògens, estrògens i progestàgens). Funcionalment, els glucocorticoides participen, directament o indirectament, en diferents vies metabòliques, en la reproducció, en el creixement, tenen efectes renals, gàstrics i vasculars, són immunosupressors i antiinflamatoris i regulen la resistència a l'estrès. Els mineralocorticoides regulen, principalment, el balanç mineral controlant la retenció de sodi al ronyó i la secreció de potassi. Els esteroides sexuals, tot i estar produïts en

petites quantitats per l'escorça suprarenal, actuen sobre el desenvolupament, el creixement, el manteniment i la regulació del sistema reproductor.

Els peixos teleostis, en canvi, no posseeixen una glàndula adrenal aïllada, com els mamífers, i les cèl·lules que sintetitzen hormones corticals s'anomenen interrenals i estan distribuïdes al pronefró o ronyó anterior (Milano *et al.*, 1997), principalment tocant les venes cardinals posteriors i les seves ramificacions. Així mateix, les cèl·lules cromafins secretores d'adrenalina i noradrenalina en peixos estan també individualitzades al ronyó anterior.

El principal glucocorticoide en peixos és el cortisol (hidrocortisona) (Mommsen *et al.*, 1999). Actualment no hi ha evidències que els peixos sintetitzin aldosterona, mineralocorticoide predominant en mamífers; per tant, les funcions mineralocorticoides també són assumides pel cortisol (McDonald i Milligan, 1997; Wendelaar, 1997; Mommsen *et al.*, 1999).

Funcions del cortisol

El cortisol és essencial per a una gran varietat de processos fisiològics. Les funcions més importants que se li atribueixen en els diferents compartiments fisiològics són les següents:

Efectes sobre el metabolisme dels carbohidrats: mentre que en els mamífers, el cortisol estimula la gluconeogènesi al fetge i provoca una

disminució moderada de la utilització de glucosa per les cèl·lules de l'organisme, en els peixos teleostis s'ha estudiat l'efecte del cortisol en relació als nivells de glicogen hepàtic i de glucosa plasmàtica i s'ha vist que tots dos varien substancialment segons l'espècie, l'estat de desenvolupament i l'estat metabòlic de l'animal. No obstant això, encara que no es donin canvis en la glucosa plasmàtica, en general podem dir que el tractament amb cortisol augmenta la gluconeogènesi hepàtica perquè augmenten les activitats dels enzims gluconeogènics (Mommsen *et al.*, 1999).

Efectes sobre el metabolisme de les proteïnes: un dels principals efectes metabòlics del cortisol en mamífers és la disminució del contingut proteic en totes les cèl·lules excepte a les hepàtiques i al plasma. També, el cortisol disminueix el transport d'aminoàcids cap a les cèl·lules musculars. En peixos, exerceix acció proteolítica especialment en el múscul blanc dels peixos i possiblement en el fetge (Mommsen *et al.*, 1999). De tota manera, és difícil demostrar-ho experimentalment perquè aquesta acció està influenciada per la inanició, la hipoosmoregulació, l'exercici o la maduració sexual. A més, el cortisol retarda el creixement tissular i inhibeix la proliferació cel·lular (Davis *et al.*, 2002). L'augment de l'activitat proteolítica perifèrica implica modificacions en el metabolisme dels aminoàcids. El tractament amb cortisol tendeix a augmentar els aminoàcids plasmàtics influïent en la glucogènesi, la gluconeogènesi i possiblement la síntesi proteica (Mommsen *et al.*, 1999).

Efectes sobre el metabolisme dels lípids: en mamífers, fomenta la mobilització d'àcids grassos des del teixit adipós la qual cosa augmenta la concentració d'àcids lliures al plasma i augmenta la seva utilització per a obtenir energia. La idea més estesa sobre la regulació del metabolisme lipídic en peixos per part del cortisol li atorga una acció lipolítica hepàtica i perifèrica que desencadena un augment en els àcids grassos plasmàtics no esterificats (Mommsen *et al.*, 1999).

Efectes antiinflamatoris i sistema immunitari: en els mamífers, després d'una inflamació, l'administració de cortisol bloqueja o anul·la alguns dels efectes desencadenats per la lesió. Actua com a regulador de la inflamació a diferents nivells: disminueix la permeabilitat dels capillars, disminueix la migració de leucòcits i la fagocitosis de les cèl·lules lesionades i disminueix la proliferació limfocitària (principalment limfòcits T). Els glucocorticoides limiten, d'aquesta manera, l'extensió de la inflamació. Paral·lelament, la resposta a l'estrès va acompanyada d'una disminució dels eosinòfils, limfòcits, basòfils i monòcits, d'un augment dels eritròcits, neutròfils i plaquetes i d'una disminució del teixit limfoide i, per tant, de la producció de cèl·lules T i dels anticossos (McEwen *et al.*, 1997; Turnbull i Rivier, 1999; Guyton, 2002). En peixos, els efectes del cortisol sobre el sistema immunitari són molt menys coneguts. Malgrat això, s'ha vist que després d'un estrès es produeix una disminució en la proliferació de limfòcits T i en el nombre de cèl·lules B circulants, mentre que els granulòcits neutrofílics es mantenen constants o augmenten (Harris i Bird, 2000; Engelsma *et al.*, 2002; Wojtaszek *et al.*, 2002). El cortisol disminueix l'activitat de les cèl·lules B de produir anticossos circulants (la IgM és l'anticòs majoritari produït pels peixos). El cortisol també induïx apoptosi en els limfòcits B en peixos (Engelsma *et al.*, 2002) i té efectes depressius sobre determinades cèl·lules del sistema immunitari amb funcions com la fagocitosis i la proliferació limfocitària (Harris i Bird, 2000; Wojtaszek *et al.*, 2002). El cortisol actua com a antiinflamatori perquè exerceix acció directa sobre les citocines proinflamatòries induïdes per l'LPS, bloquejant la seva producció (Weyts *et al.*, 1999; Haddad *et al.*, 2002).

Resposta a l'estrès: l'estrès produeix un augment immediat en la secreció de cortisol per l'escorça suprarenal dels mamífers. En els peixos, l'estrès també comporta la secreció immediata de cortisol i, per aquest motiu, és un dels

paràmetres més acceptats i utilitzats com a resposta a l'estrès (Pickering i Pottinger, 1989; Barton i Iwama, 1991; Barton, 2002; Ortuño *et al.*, 2002; Tort *et al.*, 2003).

Altres funcions en peixos: El cortisol suprimeix les funcions reproductores (Davis *et al.*, 2002). L'adaptació dels peixos a l'aigua marina està regulada pel cortisol, ja que activa la diferenciació de les cèl·lules branquials del clozur reguladores de l'equilibri iònic i estimula l'activitat dels enzims ATPasa de sodi/potassi (activitat Na^+/K^+ ATPàsica) de les brànquies (McDonald i Milligan, 1997). També assumeix funcions mineralocorticoides, participant en la regulació osmòtica i iònica (McDonald i Milligan, 1997; Wendelaar Bonga, 1997).

Regulació de la secreció de cortisol

La producció de cortisol de les glàndules suprarenals dels mamífers està controlada per l'eix hipotalàmic-pituitari-adrenal (HPA). Aquest eix s'activa davant d'un estímul estressant i desencadena una cascada hormonal que produeix, en primer lloc, hormona alliberadora de corticotropines (CRH) sintetitzada per l'hipotàlem. Posteriorment, aquesta hormona arriba a les cèl·lules corticotròpiques de la glàndula pituitària o hipòfisi anterior a través del sistema portal hipofisari i indueix la síntesi i secreció d'hormona adrenocorticotropa (ACTH). Aquesta hormona s'uneix de manera específica a receptors d'elevada afinitat a la superfície de les cèl·lules adrenocorticals per a estimular la síntesi i secreció de cortisol. El cortisol té un efecte de retroalimentació negativa sobre l'hipotàlem, per a disminuir la formació de CRH, i sobre la hipòfisi anterior, per a disminuir la síntesi d'ACTH.

La secreció de cortisol en peixos està regulada per l'eix hipotalàmic-pituitari-interrenal (HPI), equivalent a l'eix HPA en mamífers. De la mateixa manera que en mamífers, davant un estímul estressant l'eix HPI s'activa, desencadena una cascada hormonal i produ-

eix hormona alliberadora de corticotropines (CRH) a l'hipotàlem, la qual, posteriorment, indueix la secreció d'hormona adrenocorticotropa (ACTH). Finalment, s'allibera cortisol com a hormona fisiològica majoritària encarregada d'activar la resposta a l'estrès (Sumpster, 1997; Mommsen *et al.*, 1999).

Interacció neuroimmunoendocrina

En els vertebrats la resposta a l'estrès és possible gràcies a la interacció multidireccional entre els sistemes nerviós, immunitari i endocrí (Beishuizen i Thijs, 2003). Les interaccions entre els sistemes immunitari i endocrí es realitzen a través d'una complicada xarxa de comunicacions paracrines bidireccionals encarregades de mantenir l'homeòstasi fisiològica. Aquesta comunicació es pot donar gràcies a la capacitat de les cèl·lules d'un dels sistemes de respondre als senyals que provenen de l'altre sistema a causa de l'existència de receptors específics de senyals endocrins a les cèl·lules immunitàries i a l'inrevès (McEwen *et al.*, 1997; Turnbull i River, 1999; Haddad *et al.*, 2002).

La comunicació immunoendocrina, per tant, té un paper important en el manteniment de l'equilibri fisiològic sota una elevada varietat de condicions estressants, inclosa l'endotoxèmia (Beishuizen i Thijs, 2003). L'endotoxina dels bacteris gramnegatius, també anomenada lipopolisacàrid (LPS), està considerada una macromolècula biològicament molt activa que s'allibera dels bacteris que estan morint i estimula nombroses respostes immunitàries. La resposta de l'organisme a les alteracions de l'homeòstasi causades per l'LPS es coneix com a resposta de fase aguda (Bertók, 1998). Està generalment acceptat que el LPS augmenta la producció de citocines humorals i hipotalàmiques que activen l'eix HPA.

Les citocines proinflamàtores alliberades en resposta a l'LPS són molècules efectores del

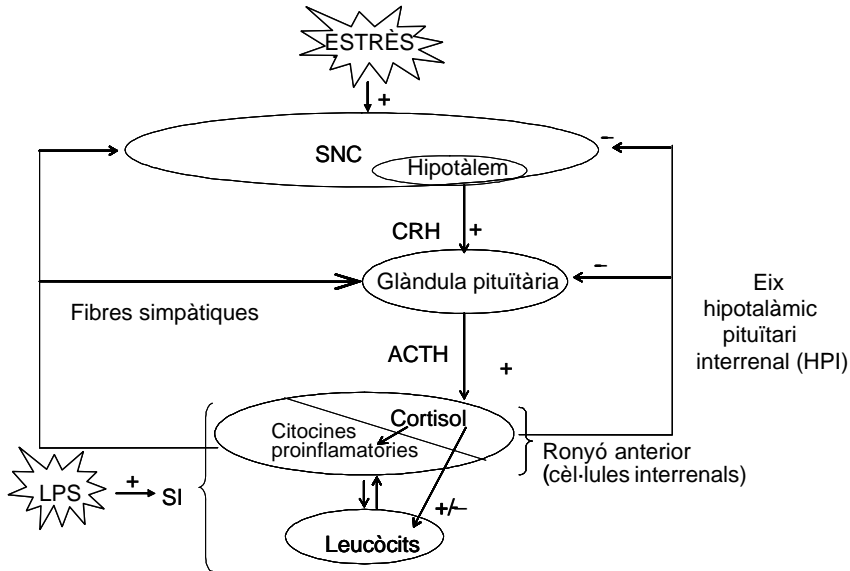


FIGURA 1. Representació esquemàtica de les vies de comunicació entre l'eix hipotalàmic-pituitari-interrenal (HPI) i el sistema immunitari (SI) en peixos teleostis (adaptat de Weyts *et al.*, 1999).

sistema immunitari que actuen com a missatgers químics enviant senyals al sistema endocrí per a estimular l'eix HPA (Turnbull i Rivier, 1999). En mamífers, aquesta activació es dona a l'hipotàlem, principalment activant l'alliberació d'hormona alliberadora de corticotropines (CRH) (McEwen *et al.*, 1997; Dadoun *et al.*, 1998). La secreció de glucocorticoides adrenals regula la resposta inflamatòria ja que, per retroalimentació negativa, inhibeixen la producció de citocines induïdes per l'LPS (Haddad *et al.*, 2002).

Els peixos teleostis responen a l'estrès per diferents vies per poder mantenir l'homeòstasi o equilibri del medi intern (Wedemeyer *et al.*, 1990). Les comunicacions immunoendocrines en peixos estan igualment centrades en la modulació dels processos inflamatoris i immunològics a través d'hormones i en l'expressió de receptors hormonals en cèl·lules del sistema immunitari (Wendelaar Bonga, 1997; Weyts *et al.*, 1999; Harris i Bird, 2000; Engelsma *et al.*, 2002). L'augment en el contingut de CRH al cervell de tilàpies joves, *Oreochromis*

mossambicus, després d'exposar-les deu dies a LPS ha demostrat, per primera vegada, la implicació de l'hormona CRH en les interaccions immunoendocrines en peixos teleostis (Pepels *et al.*, 2004).

Utilitzant models d'injecció intraperitoneal en peixos, se sap que l'LPS induïx l'expressió de TNF α en macròfags diferenciats i monòcits en la truita (*Salmo trutta*), (MacKenzie *et al.*, 2003). L'administració d'interleucina-1 β recombinant (IL-1 β r) de truita (*Oncorhynchus mykiss*) estimula l'eix hipotalàmic-pituitari-interrenal (HPI) *in vivo* (Holland *et al.*, 2002). L'LPS també estimula l'eix HPI *in vivo* (Balm, 1997; Holland *et al.*, 2002) i augmenta, en conseqüència, la producció de l'hormona adrenocorticotropa (ACTH) i els glucocorticoides (GC), principalment el cortisol (vegeu la figura 1). Tot i que, en peixos, segurament l'activació de l'eix HPI per LPS també es dona mitjançant la producció de citocines proinflamàtoies, encara no es coneixen els mecanismes implicats en aquesta activació.

Cal esmentar aquí que els peixos proporci-

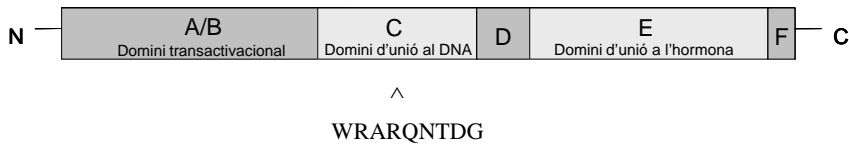


FIGURA 2. Representació esquemàtica de l'estructura dels receptors de la família S/T/R amb els diferents dominis funcionals des de l'extrem aminoterminal (N) fins a l'extrem carboxiterminal (C) (adaptat d'Evans 1988 i Encio *et al.*, 1991). La figura mostra els nou aminoàcids addicionals que es troben en algunes espècies de peixos: *Dicentrarchus labrax*, *Paralichthys olivaceus* i *Oncorhynchus mykiss* (GR1).

onen un model únic per a estudiar les interaccions immunoendocrines. Els peixos tenen un òrgan, el ronyó anterior o ronyó cefàlic, que concentra precisament l'acció dels sistemes de regulació nerviosos, endocrins i immunitari, que en altres animals estan més clarament diferenciats en òrgans separats. Aquesta organització anatòmica ofereix la possibilitat de les interaccions paracrines directes entre el sistema immunitari i l'endocrí (Weyts *et al.*, 1999).

RECEPTORS DE CORTISOL

En mamífers, les hormones corticoesteroides actuen a través de dos receptors intracel·lulars específics: el receptor de tipus I o receptor mineralocorticoide (MR) i el receptor de tipus II o receptor glucocorticoide (GR). Ambdós receptors són membres d'una superfamília de receptors d'esteroides/tiroides/retinoides (família S/T/R), que inclouen andrògens, progesterona, estrògens, retinoides i receptors orfes (Evans, 1988). Els receptors d'aquesta família comparteixen una estructura canònica formada per diferents dominis funcionals (Evans, 1988; Encio i Detera-Wadleigh, 1991); (vegeu la figura 2). El domini A/B és la regió de transactivació de l'extrem aminoterminal, important en la modulació de l'activitat transcripcional. Aquest domini és bastant variable entre espècies. El domini C és el domini d'unió al DNA o DBD (*DNA binding domain*). Aquesta regió conté dos anells de zinc (*clusters* o agrupacions de cisteïnes que coordinen la retenció de dos àtoms de zinc a

la proteïna), un per a unir-se al DNA, i l'altre per a dimeritzar amb un altre receptor. Aquests anells permeten l'estabilització de l'acoblament tridimensional de les hèlixs i les regions interhelicals responsables de les interaccions entre la proteïna i els elements de resposta al glucocorticoide (GRE) i de part de l'homodimerització. És una regió altament conservada entre espècies. El domini D és on tenen lloc els canvis conformationals durant la unió a l'hormona. El domini E és el lloc d'unió a l'hormona, HBD (*hormone binding domain*). Aquesta regió també està molt conservada entre espècies. El domini F està localitzat en posició carboxiterminal però no sempre està present, depenent de l'espècie.

Tots els receptors de la família S/T/R comparteixen una elevada homologia en la seqüència en els dominis DBD i HBD i actuen com a factors de transcripció dependents del lligand.

El cortisol s'uneix i indueix l'activitat transcripcional dels dos receptors (Guyton, 2002). L'MR s'activa per l'aldosterona però té deu vegades més afinitat pel cortisol que el GR. Això és així perquè el cortisol també proporciona una quantitat significativa d'activitat mineralocorticoide ja que, tot i que la seva activitat és menor que la de l'aldosterona, la seva secreció és molt més elevada. Els dos receptors comparteixen, per tant, afinitat pel lligand i, a més a més, s'uneixen als mateixos elements de resposta al glucocorticoide (GRE). Malgrat aquestes coincidències, cadascun regula processos cel·lulars diferents.

L'estructura del receptor de cortisol en pei-

TAULA 1. Longitud dels receptors de cortisol, el receptor glucocorticoide (GR) i el receptor mineralocorticoide (MR), expressat en parells de bases (pb) en diferents espècies de peixos: *Oncorhynchus mykiss*, *Paralichthys olivaceus*, *Haplochromis burtoni* i *Dicentrarchus labrax*

Espècie	Receptor	Mida	Referència
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	GR1	6707 pb	Bury <i>et al.</i> , 2003
	GR2	2756 pb	Ducouret <i>et al.</i> , 1995
	MR	1080 pb (parcial)	Colombe <i>et al.</i> , 2000
<i>Paralichthys olivaceus</i>	GR	3391 pb	Tokuda 98 (AB013444)
<i>Haplochromis burtoni</i>	GR1	2620 bp	Greenwood <i>et al.</i> , 2003
	GR2 a	3894 pb	
	GR2 b	3921 pb	
	MR	3285 bp	
<i>Dicentrarchus labrax</i>	GR	2457 pb	Terova <i>et al.</i> , 2005

xos és similar a la dels mamífers. Malgrat tot, s'han trobat, en algunes espècies, nou aminoàcids addicionals entre els dos anells de zinc del domini d'unió al DNA; concretament s'ha trobat en *Dicentrarchus labrax* (Terova *et al.*, 2005), *Paralichthys olivaceus* (Tokuda 1998, número d'accés AB013444) i *Oncorhynchus mykiss* (Ducouret *et al.*, 1995; Bury *et al.*, 2003) (vegeu la figura 2).

D'altra banda, els peixos no sintetitzen aldosterona i, per tant, el cortisol assumeix accions glucocorticoides i mineralocorticoides. Fins fa poc no hi havia constància de l'existència d'un receptor mineralocorticoide en peixos i es creia que els dos tipus d'accions del cortisol les duia a terme el receptor glucocorticoide. Experiments recents han demostrat que algunes espècies expressen els dos receptors (MR i GR) i que tots dos actuen com a receptors de cortisol. Per tant, les funcions glucocorticoides o mineralocorticoides assumides pel cortisol depenen del receptor al qual s'uneixi.

Les diferents espècies en què s'ha estudiat l'MR són: la truita, *Oncorhynchus mykiss* (Colombe *et al.*, 2000; Sloman *et al.*, 2001) i la tilàpia, *Haplochromis burtoni* (Greenwood *et al.*, 2003). El GR s'ha clonat en diverses espècies de peixos teleostis: la truita, *Oncorhynchus mykiss*, el fals halibut del Japó, *Paralichthys olivaceus* (Tokuda 1998, número d'accés AB013444), la tilàpia de Moçambic,

Oreochromis mossambicus, amb clonatge parcial (Tagawa *et al.*, 1997), la tilàpia, *Haplochromis burtoni*, i el llobarro, *Dicentrarchus labrax* (Terova *et al.*, 2005). La mida del receptor en parells de bases (pb) varia en funció de l'espècie (vegeu la taula 1).

Fins ara, ningú no havia aconseguit clonar el receptor de cortisol de l'orada, *Sparus aurata*. Nosaltres tenim seqüenciades fins al moment 3.421 pb del receptor glucocorticoide (Acerete *et al.*, dades no publicades).

El clonatge del receptor glucocorticoide de les espècies abans esmentades s'ha realitzat en diferents teixits. L'expressió del GR de la truita (*Oncorhynchus mykiss*) s'ha estudiat en brànquies, intestí, ronyó anterior, fetge, múscul, pell, melsa i cor (Ducouret *et al.*, 1995; Bury *et al.*, 2003). La tilàpia (*Haplochromis burtoni*) mostra una distribució diferencial dels diferents receptors en funció del teixit (Greenwood *et al.*, 2003): l'MR és dominant al cervell; a la majoria de teixits el GR2 està més expressat que el GR1, i els valors més elevats es troben en cor, fetge i melsa; al ronyó anterior l'expressió és baixa per a tots els receptors i a les brànquies s'expressen d'una manera equitativa. En *Oreochromis mossambicus* l'expressió del GR1 és elevada a les cèl·lules sanguínies, a les brànquies i a la melsa, moderada en cervell, cor i múscul i dèbil al fetge.

S'han dissenyat diferents models experi-

mentals per a estudiar el comportament del receptor glucocorticoide en peixos sotmesos a estrès. Amb aquests estudis s'han pogut descriure, per exemple, els mecanismes següents: l'adaptació a l'aigua marina de la tilàpia de Moçambic (*Oreochromis mossambicus*) (Tagawa *et al.*, 1997) està acompanyada d'una regulació positiva del nombre de receptors glucocorticoides intracel·lulars a les brànquies (Dean *et al.*, 2003). L'estrès pot promoure l'associació entre la hsp70 (*heat shock protein 70*) i el receptor glucocorticoide (Basu *et al.*, 2003). L'administració crònica de cortisol afecta el contingut de GR al fetge de la truita (*Oncorhynchus mykiss*) (Vijayan *et al.*, 2003).

Diferents estudis d'unió al cortisol *in vitro* han identificat l'existència d'un GR en diferents espècies de peixos teleostis i en teixits diferents: a les brànquies de la truita de rierol, *Salvenilus fontinalis* (Chakraborti *et al.*, 1987); al cervell del salmó real, *Oncorhynchus tshawytscha* (Knoebel *et al.*, 1996), als leucòcits perifèrics de la carpa, *Cyprinus carpio* (Weyts *et al.*, 1998) i a les brànquies de l'anguila europea, *Anguilla anguilla* (Marsigliante *et al.*, 2000).

Senyalització del GR

Després d'una situació estressant, les concentracions plasmàtiques de cortisol augmenten dramàticament. Posteriorment, el cortisol travessa directament la membrana plasmàtica, per les característiques hidrofòbiques de la molècula i, un cop al citoplasma, s'uneix al receptor glucocorticoide (GR). Fins aquest moment, el receptor estava inactiu formant un complex amb altres proteïnes, principalment la hsp90 (*heat shock protein 90*) i la hsp70 (*heat shock protein 70*) combinades amb altres caperones que estableixen el complex com la p60, la p23 (o el molibdat) i immunofilines (FKBP52 o CyP40). En aquest estat, els dominis d'unió al DNA i d'unió a l'hormona del receptor (DBD i HBD, respectivament) estaven ocupats concretament per un dímer de protei-

nes format principalment per la hsp90 (Scherer *et al.*, 1990; Dittmar i Pratt, 1997; Basu *et al.*, 2003). La unió del lligand amb el receptor dissocia aquest complex oligomèric i deixa lliures els anells de zinc del DBD i permet la formació d'una subunitat hormona-receptor lliure. El receptor activat forma un homodímer i es transloca al nucli a través d'un nucleopor. Aquesta translocació requereix, a més, la presència de senyals de localització nuclear i el reconeixement posterior mitjançant proteïnes d'unió al nucleopor (Mommensen *et al.*, 1999). Després, els receptors actuen com a factors de transcripció dependents del lligand en complexos proteics que s'uneixen cooperativament a seqüències específiques del DNA o a elements de resposta al glucocorticoide (GRE) que són seqüències palindròmiques imperfectes de quinze nucleòtids. Aquesta unió permet l'activació transcripcional de diferents gens implicats en la resposta biològica.

El GR interfereix amb els factors de transcripció (principalment el factor nuclear kappa B, NFκB) implicats en l'activació dels gens que codifiquen citocines proinflamàtores. Aquesta interferència comporta interaccions proteïna-proteïna, independents de GRE, i atenua la seva capacitat d'induir la transcripció dels gens implicats en la resposta inflammatòria (Adcock i Caramori, 2001; Engelsma *et al.*, 2002; Beishuizen i Thijs, 2003). D'aquesta manera, els glucocorticoides regulen la resposta inflammatòria desencadenada per una estimulació amb LPS.

Són encara molts els interrogants plantejats respecte del paper dels glucocorticoides i de la seva regulació en els peixos, fonamentalment pel desconeixement dels receptors d'aquestes molècules. El treball desenvolupat en aquests darrers anys sobre el receptor i l'ampliació d'aquests estudis a diverses espècies permetrà l'avenç en l'estudi de l'estrès i les interaccions neuroimmunoendocrines en peixos.

BIBLIOGRAFIA

- ADCOCK, I. M.; CARAMORI, G. (2001). «Cross-talk between pro-inflammatory transcription factors and glucocorticoids». *Immunology and Cell Biology*, 79: 376-384.
- BALM P. H. M. (1997). «Immune-endocrine interactions». A: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B.; RUANE, N. M. [ed.] *Fish stress and health in Aquaculture*. Cambridge. p. 195-221.
- BARTON B. A. (2002). «Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids». *Integ. and comp. biol.*, 42: 517-525.
- BARTON, B. A.; IWAMA G. K. (1991). «Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids». *Annual Review of Fish Diseases*, 1: 3-26.
- BASU, N.; KENNEDY, C. J.; IWAMA, G. K. (2003). «The effects of stress on the association between hsp70 and the glucocorticoid receptor in rainbow trout». *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 134: 655-663.
- BEISHUIZEN, A.; THIJIS, L. G. (2003). «Endotoxin and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis». *Journal of Endotoxin Research*, 9: 3-24.
- BERTÓK, L. (1998). «Endotoxins and endocrine system». *Domestic Animal Endocrinology*, 15 (5): 305-308.
- BURY, N. R.; STURM, A.; ROUZIC, P. L.; LETHIMONIER, C.; DUCOURET, B.; GUIGUEN, Y.; ROBINSON-RECHAVI, M.; LAUDET, V.; RAFESTIN-OBLIN, M. E.; PRUNET, P. (2003). «Evidence for two distinct functional glucocorticoid receptors in teleost fish». *Journal of Molecular Endocrinology*, 31: 141-156.
- COLOMBE, L.; FOSTIER, A.; BURY, N.; PAKDEL, F.; GUIGUEN, Y. (2000). «A mineralocorticoid-like receptor in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: cloning and characterization of its steroid binding domain». *Steroids*, 65: 319-328.
- CHAKRABORTI, P. K.; WEISBART, M.; CHAKRABORTI, A. (1987). «The presence of corticosteroid receptor activity in the gills of the brook trout, *Salvelinus fontinalis*». *General and Comparative Endocrinology*, 66: 323-332.
- DADOUN, F.; GUILLAUME, V.; SAUZE, N.; FARISSE, J.; VELUT, J. G.; ORSONI, J. C.; GAILLARD, R.; OLIVER, C. (1998). «Effect of endotoxin on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in sheep». *European Journal of Endocrinology*, 138: 193-197.
- DAVIS, C. R.; OKIHIRO, M. S.; HINTON, D. E. (2002). «Effects of husbandry practices, gender, and normal physiological variation on growth and reproduction of Japanese medaka, *Oryzias latipes*». *Aquatic Toxicology*, 60: 185-201.
- DEAN, D. B.; WHITLOW, Z. W.; BORSKI, R. J. (2003). «Glucocorticoid receptor upregulation during seawater adaptation in a euryhaline teleost, the tilapia (*Oreochromis mossambicus*)». *General and Comparative Endocrinology*, 132: 112-118.
- DITTMAR, K. D.; PRATT, W. B. (1997). «Folding of the Glucocorticoid Receptor by the reconstituted hsp90-based chaperone machinery». *The Journal of Biological Chemistry*, 372: 13047-13054.
- DUCOURET, B.; TUJAGUE, M.; ASHRAF, J.; MOUCHEL, N.; SERVEL, N.; VALOTAIRE, Y.; THOMPSON E. B. (1995). «Cloning of a teleost fish glucocorticoid receptor shows that it contains a deoxyribonucleic acid-binding domain different from that of mammals». *Endocrinology*, 136: 3774-3783.
- ENCIO, I. J.; DETERA-WADLEIGH, S. D. (1991). «The genomic structure of the human glucocorticoid receptor». *The Journal of Biological Chemistry*, 266: 7182-7188.
- ENGELSMA, M. Y.; HUISING, M. O.; VAN MUISWINKEL, W. B.; FLIK, G.; KWANG, J.; SAVELKOU, H. F. J.; VERBURG-VAN KEMENADE, B. M. L. (2002). «Neuroendocrine-immune interactions in fish: a role for interleukin-1». *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 87: 467-479.
- EVANS, R. M. (1988). «The steroid and thyroid hormone receptor superfamily». *Science*, 240: 889-895.
- GREENWOOD, A. K.; BUTLER, P. C.; WHITE, R. B.; DEMARCO, U.; PEARCE, D.; FERNALD, R. D. (2003). «Multiple corticosteroid receptors in a teleost fish: distinct sequences, expression patterns, and transcriptional activities». *Endocrinology*, 144 (10): 4226-4236.
- GUYTON A. C.; HALL J. E. (2002). *Tratado de Fisiología Médica*. 10a ed. Mc-Graw-Hill-Interamericana de España.
- HADDAD, J. J.; SAADE, N. E.; SAFIEH- GARABEDIAN, B. (2002). «Cytokines and neuro-immune endocrine interactions: a role for the hypothalamic-pituitary-adrenal revolving axis». *Journal of Neuroimmunology*, 133: 1-19.
- HARRIS, J.; BIRD, D. J. (2000). «Modulation of the fish immune system by hormones». *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77: 163-176.
- HOLLAND, J. W.; POTTINGER, T. G.; SECOMBES, C. J. (2002). «Recombinant interleukin-1b activates the hypothalamic-pituitary-interrenal axis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*». *Journal of Endocrinology*, 175: 261-267.
- KNOEBL, I.; FITZPATRICK, M. S.; SCHRECK, C. B. (1996). «Characterization of a glucocorticoid receptor in the brains of Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*». *General and Comparative Endocrinology*, 101: 195-204.
- MACKENZIE, S.; PLANAS, J. V.; GOETZ, F. W. (2003). «LPS-stimulated expression of a tumor necrosis factor-alpha mRNA in primary trout monocytes and in vitro differentiated macrophages». *Developmental and Comparative Immunology*, 27: 393-400.
- MARSIGLIANTE, S.; BARKER, S.; JIMENEZ, E.; STORELLI, C. (2000). «Glucocorticoid receptors in the euryhaline teleost *Anguilla anguilla*». *Molecular and Cellular Endocrinology*, 162: 193-201.
- MCDONALD, G.; MILLIGAN, L. (1997). «Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress». A: IWAMA, G. K., PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B.; RUANE, N. M. [ed.] *Fish stress and health in Aquaculture*. Cambridge: 119-144.
- MCEWEN, B. S.; BIRON, C. A.; BRUNSON, K. W.; BULLOCH, K.; CHAMBERS, W. H.; DHABHAR, F. S.; GOLDFARB,

- R. H.; KITSON, R. P.; MILLER, A. H.; SPENCER, R. L.; WEISS, J. M. (1997). «The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions». *Brain Research Reviews*, 23: 79-133.
- MILANO, E. G.; BASARI, F.; CHIMENTU, C. (1997). «Adrenocortical and adrenomedullary homologs in eight species of adult and developing teleosts: morphology, histology and immunohistochemistry». *General and Comparative Endocrinology*, 108: 483-496.
- MOMMSEN, T. P.; VIJAGAN, M. M.; MOON, T. W. (1999). «Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation». *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9: 211-268.
- ORTUÑO, J.; ESTEBAN, A.; MESEGUER, J. (2002). «Lack of effect of combining different stressors on innate responses of sea bream (*Sparus aurata* L.)». *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 84: 17-27.
- PEPELS, P. P. L. M.; WENDELAAR BONGA, S. E.; BALM P. H. M. (2004). «Bacterial lipopolysaccharide (LPS) modulates corticotropin-releasing hormone (CRH) content and release in the brain of juvenile and adult tilapia (*Oreochromis mossambicus*; Teleostei)». *General and Comparative Endocrinology*, 132: 256-263.
- PICKERING, A. D.; POTTINGER, T. G. (1989). «Stress responses and disease resistance in salmonid fish: Effects of chronic elevation of plasma cortisol». *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 253-258.
- SCHERRER, L. C.; DALMAN, F. C.; MASSA, E.; MESHINCHI, S.; PRATT, W. P. (1990). «Structural and functional reconstitution of the Glucocorticoid Receptor-HSP90 complex». *The Journal of Biological Chemistry*, 265: 21397-21400.
- SLOMAN, K. A.; DESFORGES, P. R.; GILMOUR, K. M. (2001). «Evidence for a mineralocorticoid-like receptor linked to branchial chloride cell proliferation in freshwater rainbow trout». *The Journal of Experimental Biology*, 204: 3953-3961.
- SUMPTER, J. P. (1997). «The endocrinology of stress». A: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B.; RUANE, N. M. [ed.]. *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge, p. 95-118.
- TAGAWA, M.; HAGIWARA, H.; TAKEMURA, A.; HIROSE, S.; HIRANO, T. (1997). «Partial cloning of the hormone-binding domain of the cortisol receptor in tilapia, *Oreochromis mossambicus*, and changes in the mRNA level during embryonic development». *General and Comparative Endocrinology*, 108: 132-140.
- TEROVA, G.; GORNATI, R.; RIMOLDI, S.; BERNARDINI, G.; SAROGLIA, M. (2005). «Quantification of a glucocorticoid receptor in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) reared at high stocking density». *Gene*, 357: 144-151.
- TORT, L.; BALASCH, J. C.; MACKENZIE, S. (2003). «Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses». *Immunologia*, 22: 277-286.
- TURNBULL, A. V.; RIVIER, C. L. (1999). «Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action». *Physiological Reviews*, 79: 1-71.
- VIJAYAN, M. M.; RAPTIS, S.; SATHIYAA, R. (2003). «Cortisol treatment affects glucocorticoid receptor and glucocorticoid-responsive genes in the liver of rainbow trout». *General and Comparative Endocrinology*, 132: 256-263.
- WEDEMEYER, G. A.; BARTON, B. A.; MCLEAY, D. J. (1990). «Stress and acclimation». A: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. [ed.]. *Methods for fish biology*, cap. 14: 451-489.
- WENDELAAR BONGA, S. E. (1997). «The stress response in fish». *Physiological Reviews*, 77: 591-625.
- WEYTS, F. A. A.; VERBURG-VAN KEMENADE, B. M. L.; FLIK, G. (1998). «Characterisation of glucocorticoid receptors in peripheral blood leukocytes of carp, *Cyprinus carpio* L.». *General and Comparative Endocrinology*, 111: 1-8.
- WEYTS, F. A. A.; COHEN, N.; FLIK, G.; KEMENADE, W. (1999). «Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish». *Fish and Shellfish Immunology*, 9: 1-20.
- WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. (2002). «Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): Cortisol effect on the carp blood». *General and Comparative Endocrinology*, 125: 176-183.