

PAPEL DOS NEUROTRANSMISORES DOPAMINA E SEROTONINA NA ACTIVACIÓN/DESACTIVACIÓN DA RESPOSTA AO ESTRÉS CRÓNICO EN PEIXES TELEÓSTEOS

Naderi, F.¹ ; Chivite Alcalde, M.²

mchivite@uvigo.es

Resumo

1- Alumna de doutorado

DO*MAR.

2- Alumno de mestrado en

Acuicultura.

Tutores: Marcos A. López

Patiño, Jesús M. Míguez

Miramontes

Facultad de Biología

Universidad de Vigo.

Este estudo recolle datos dunha investigación que tivo como obxectivo entender a integración neuroendocrina en condicións de estrés nos peixes teleósteos. O estudo demostrou que dous dos neurotransmisores monoaminérxicos cerebrais, a dopamina e a serotonina, teñen un papel importante na sinalización dos sinais de estrés e no inicio/final da resposta neuroendocrina, Tanto o sistema dopaminérxico como o serotoninérxico actívanse en situación de estrés prolongado e desactívanse gradualmente cando desaparece o estímulo estresante, todo elo funcionando en paralelo cos cambios nos niveis circulantes de cortisol, a principal hormona implicada na resposta ao estrés crónico.

Introducción

En acuicultura, o benestar animal é un aspecto de especial relevancia dado que inflúe de maneira directa no crecemento, a capacidade de defensa fronte a enfermidades e a actividade reprodutiva dos peixes. Con todo, o benestar pódese ver comprometido durante os procesos de manexo dos animais, ou por defectos na calidade da auga, a condición alimenticia, etc, dando lugar a situacións de estrés. Estas poden ser agudas, se aparecen de forma puntual ou crónicas, se persisten no tempo, sendo estas últimas as máis dañinas en termos de benestar e supervivencia dos animais. Entre as situacións que inducen estrés crónico destacan a baixa renovación da auga ou o agrupamento dun gran número de peixes nos tanques de cultivo.

A resposta fisiolóxica ao estrés consiste nunha serie de fenómenos coordinados que aparecen nos animais cando estes son sometidos a estímulos estresantes. Dende un punto de vista fisiolóxico a resposta ao estrés pódese dividir en tres fases (Figura 1). Así, entendemos como **resposta primaria** a activación a nivel límbico cerebral de compoñentes neuroendocrinos, que conleva finalmente á liberación ao torrente sanguíneo das hormonas catecolaminas e o cortisol. Estas substancias provocan unha serie de cambios inmediatos no organismo (aumento de latido cardíaco, alteración do metabolismo e de parámetros hematolóxicos, etc.) os cales son coñecidos como **resposta secundaria**. A **resposta terciaria** engloba os efectos que ten o estrés a nivel xeral no organismo, alteracións no crecemento, na capacidade reprodutiva, na inxestión, e no seu comportamento social (Wendelaar Bonga, 1997; Iwama et al., 2006).

A primeira fase iniciase coa activación dunha serie de centros nerviosos localizados na área preóptica e no hipotálamo. Estes compoñentes neuroendocrinos usan dúas grandes rutas para coordinar a resposta ao estrés, unha denominada eixo hipotálamo-sistema simpático-tecidos cromafíns (homólogos a cortiza suprarrenal en mamíferos), responsable da liberación de catecolaminas ao sangue, e outra que se activa dun xeito máis lento o eixo hipotalálamo-hipófisis-tecido interrenal que é responsable da liberación do cortisol (Figura 2).

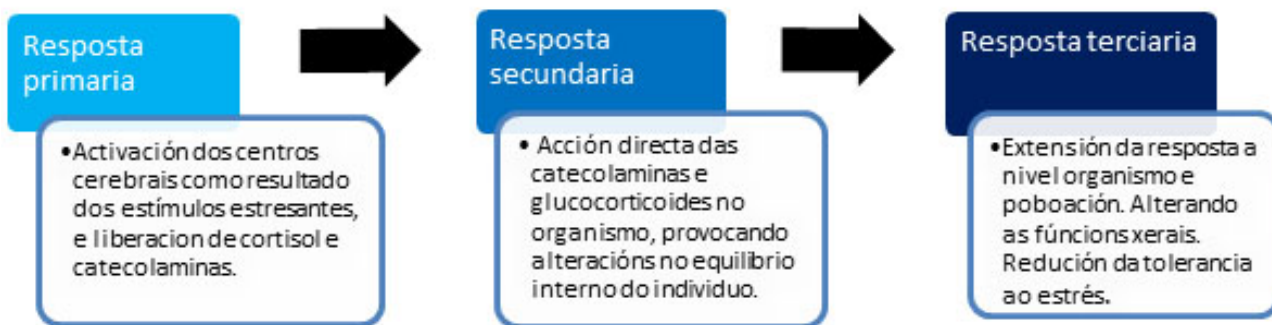


Figura 1. Etapas cronolóxicas da resposta integrada ao estrés en vertebrados

Eixo hipotálamo-sistema simpático- tecidos cromafíns (eixo HSC)

É o responsable da liberación ao sangue de catecolaminas. Tras unha situación de estrés, activanse de inmediato os circuitos nerviosos localizados no hipotálamo e na área preóptica, que envían dun modo aferente e mediante neuronas simpáticas, información ao tecido cromafín do ril anterior. A liberación das catecolaminas desde dito tecido está sometido deste xeito a un complexo control central no que podían participar os neurotransmisores monoaminérxicos cerebrales (Winberg e Nilson, 1993; Gesto *et al.*, 2013).

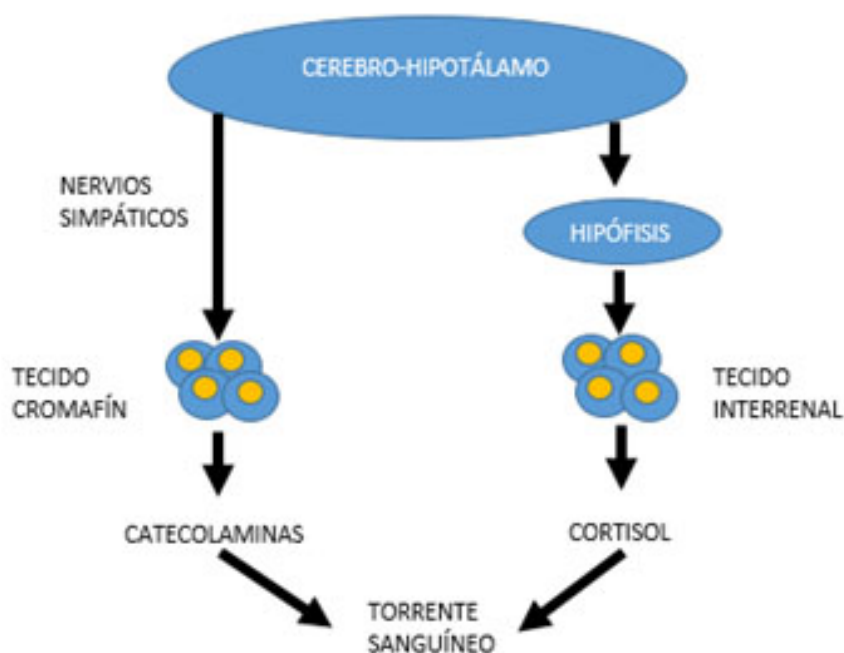


Figura 2. Sistemas neuroendócrinos involucrados na resposta ao estrés nos vertebrados

A liberación de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, no sangue ocorre rapidamente, aumentando os niveis circulantes destas substancias de inmediato, e adoitan permanecer elevados solo durante algúns minutos (1-5 min) (Randall e Perry, 1992; Reid *et al.*, 1996; Gesto *et al.*, 2013). Durante o estrés crónico os niveis circulantes de catecolaminas adoitan ser elevados ao principio, aínda que se atenúan rapidamente cando o estrés se prolonga no tempo (Randall e Perry, 1992).

Eixo hipotálamo-hipófisis-tecido interrenal (eixo HPI)

Encargado do control da síntese do cortisol (esteroidexénese). Tras un estímulo estresante estímase a liberación do factor liberador de corticotropina (CRF) dende o hipotálamo. Esta hormona, a súa vez, estimula a produción de corticotropina (ACTH) nas células corticotropas da hipófisis, a cal é liberada ao torrente sanguíneo, chegando ao tecido interrenal e provocando aquí a síntese e posterior liberación de

cortisol (Bernier, 2006; Gesto *et al.*, 2013). A liberación de cortisol ocorre con retraso en comparativa directa coa liberación de catecolaminas, por contra esta substancia mantense activa máis tempo no organismo. Nos primeiros estadios a liberación de cortisol ten un grande efecto catabólico sobre o metabolismo intermediario (aumento da glicoxénese, aumento da actividade lipolítica, etc.), mentres que a longo prazo a presenza de cortisol no medio interno dos organismos provoca efectos negativos, tales como o descenso na ingestión de alimento e, inhibicións nas capacidades reprodutivas dos individuos, inmunodepresión, etc. (Barton *et al.*, 2002; Conde-Sieira *et al.*, 2010; López-Patiño *et al.*, 2013).

Integración nerviosa dos sinais de estrés en teleósteos. Os sistemas monoaminérxicos cerebrais

Na actualidade descoñécese como son identificados os estímulos estresantes no SNC cando é como este integra e coordina unha resposta ao estrés. Segundo algúns estudos en peixes teleósteos os sistemas de neurotransmisores monoaminérxicos (serotoninérxico e dopaminérxico) poden xogar un papel destacado tanto sendo indicadores do inicio da resposta ao estrés, coma sendo elementos efectores desta resposta (Winberg e Nilsson, 1993; Gesto *et al.*, 2013).

Sistema serotoninérxico. Este sistema está baseado na acción da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), unha indolamina involucrada na regulación de diversas funcións, tales como o sono, o apetito, a temperatura corporal, a motilidade intestinal, o comportamento sexual, o estado anímico, a nocicepción, a ansiedade, etc. (Standford, 2001). A 5-HT é sintetizada a partir do aminoácido triptófano (Fig. 3) e almacénase en vesículas nas terminais nerviosas, de forma que cando as neuronas son activadas, a amina é liberada na sinapse e actúa sobre receptores presinápticos e postsinápticos. Posteriormente, a amina é recaptada e transformada a 5-hidroxiindol-3-acético (5-HIAA), un metabolito inactivo.

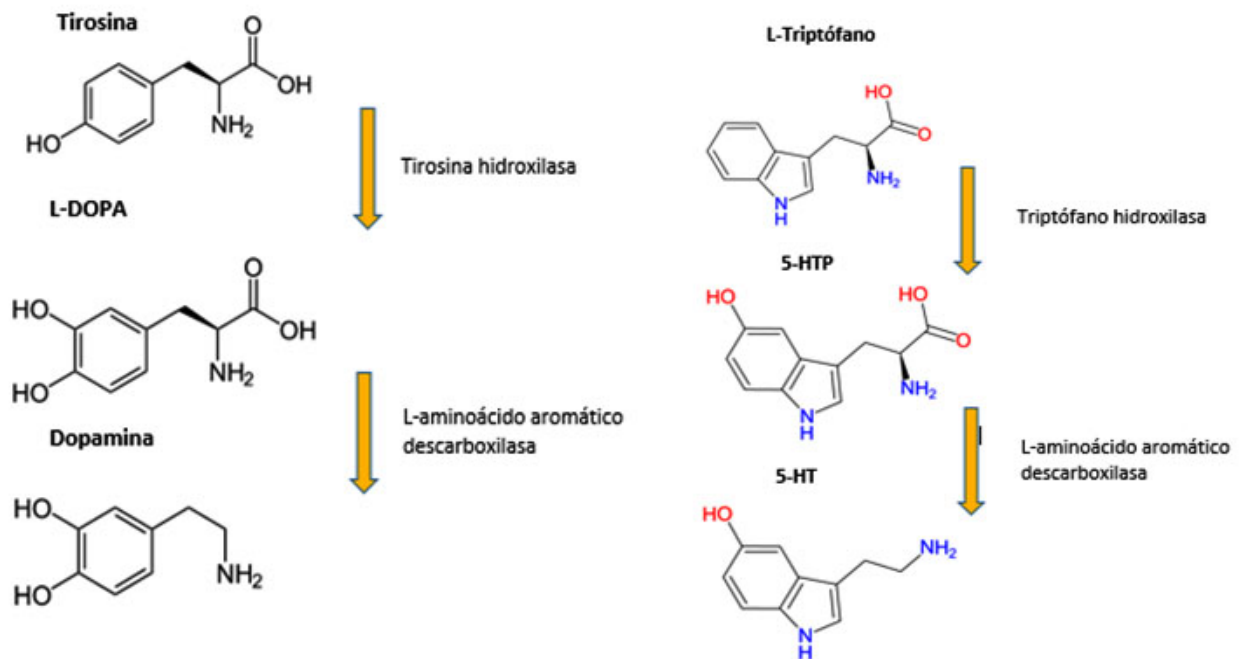


Figura 3. Esquema da ruta biosintética da dopamina (esquerda) e da serotonina (dereita)

Considérase que a relación entre a cantidade de 5-HIAA e 5-HT é un bo indicador da actividade serotoninérxica, xa que un incremento na concentración de 5-HIAA no tecido neuronal está relacionado cunha maior síntese e liberación de 5-HT (Winberg e Nilson, 1993; Gesto *et al.*, 2008; 2013)

Sistema dopaminérxico. A dopamina (DA) é unha catecolamina cuxa síntese de DA lévase a cabo no citoplasma das neuronas dopaminérxicas a partir do aminoácido L-tirosina (Figura 3). A DA é almacenada en vesículas e transportada aos terminais sinápticos neuronais. Cando as neuronas son excitadas libérase a sinapse mediante excitose, uníndose así a receptores específicos da membrana

postsináptica. As moléculas que non están unidas aos receptores son recaptadas pola membrana presináptica e convertidas en 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) pola encima MAO, mentres que as moléculas que se unen aos receptores son retiradas da fendedura sináptica por un mecanismo de alta afinidade, transportándoas ao citoplasma para seren degradadas á DOPAC. En similitude co serotoninérxico, se adoita usar a relación entre DOPAC e DA como índice da actividade do sistema dopaminérxico (Gesto *et al.*, 2008; 2013).

Cambios nos sistemas monaminérxicos cerebrais durante o estrés

Tense demostrado que en diferentes situación de estrés a actividade dos sistemas dopaminérxico e serotoninérxico a nivel do SNC aumenta, de tal xeito que foron suxeridos como indicadores da resposta ao estrés (Ortega *et al.*, 2005; Øverli *et al.*, 2005; Gesto *et al.*, 2013). Ademais, é ben coñecido que a serotonina é un elemento chave na regulación neural do eixo HPI (Øverli *et al.*, 2005; Iwama *et al.*, 2006) polo que os aumentos da actividade serotoninérxica durante o estrés poden estar ligados a activación a nivel do SNC deste eixo endocrino que produce a liberación de cortisol.

Estudos recentes mostran no caso da troita arco da vella, os sistemas monoaminérxicos poderían tamén actuar na identificación nerviosa dos estímulos estresantes, diferenciando os potencialmente prexudiciais de outros que non teñen importancia para o animal, pero tamén como discriminadores de xeito que permitan diferenciar a intensidade (magnitude) ou a duración do estrés (Gesto *et al.*, 2013). A activación serotoninérxica adoita ser de similar magnitude ante axentes estresantes de diferente severidade, pero a súa duración no tempo é dependente da intensidade do estrés. Por outro lado, tamén se contrastou que a actividade dopaminérxica en situación de estrés aumenta, pero este efecto foi anatómicamente máis localizado, aparecendo sobre todo a nivel do telencéfalo (Gesto *et al.*, 2015). Como resumen, pódese dicir que ámbolos dous sistemas neurotransmisores poden facer unha función interruptora doutros circuítos cerebrais dando lugar á activación da resposta neuroendocrina ao estrés e permitir que se manteña a curto e medio prazo.

Cando o estrés se perpetua no tempo, estes sistemas podrían seguir activos, aínda que ata o momento non se fixeron estudos específicos da súa dinámica temporal como os que existen no estrés a máis curto prazo. Dado que os cambios neuroendocrinos que acontecen durante o estrés crónico se ven mermados no tempo (De Pedro e Björnsson, 2001; Ortega *et al.*, 2005), cabe a posibilidade de que as monoaminas cerebrais teñan unha dinámica similar, o que reforzaría o papel destas sustancias na regulación da resposta de estrés.

O presente estudo tivo como obxectivos, por un lado, probar o papel dos sistemas monoaminérxicos cerebrais durante o estrés crónico na troita arco da vella, e por outro lado, analizar a súa dinámica cando o estrés cesa.

Materiais e métodos

Animais

Empregáronse exemplares de troita arco da vella (*Oncorhynchus mykiss*) provintes dunha piscifactoria de A Estrada, cun peso de 80±10 g. Os peixes foron repartidos de xeito aleatorio en 8 tanques de 100 L (n= 20 por tanque) cunha densidade de 10 Kg/m³ e mantidos baixo condicións controladas, fluxo contínuo de auga filtrada e aireada. A temperatura da auga foi de 15±1 °C e un fotoperíodo de 12:12 luz/oscuridade. A alimentación dos peixes fíxose con penso comercial en pelets (Dibaq-Diproteg SA, España) cun aporte enerxético de 20,2 MJ/kg, sempre dúas horas despois de que comezase o período de luz. Os animais estiveron nestas condicións un período de quince días para a súa aclimatación. A manipulación e experimentación cos animais realizouse seguindo a normativa europea (2010/63/EU) e española (RD 55/2013) para a utilización de animais de experimentación, e os protocolos utilizados foron aprobados polo Comité de Bioética da Universidade de Vigo.

Deseño experimental e toma de mostrás

Establecéronse 6 tanques de tratamento de estrés por alta densidade nos que se reduciu o volume de auga até acadar unha densidade de 70 Kg/m³, permanecendo os peixes nestas condicións por un tempo de 7 días (5 tanques) e 10 días (1 tanque) (Táboa 1). Pasado o tempo de 7 días, un dos tanques de estrés foi mostreado, mentres que os catro restantes foron devoltos ao seu estado inicial, recuperando o volume de partida (densidade dos peixes < 10 Kg/m³) e comezando o tempo de recuperación, exposto na táboa 1. En paralelo os tanques de estrés, mantivéronse tamén 2 tanques control (peixes non estresados), un relativo o tratamento de estrés de 7 días e outro para o de 10 días.

Tabla 1. Descrición dos grupos incluídos no deseño experimental empregado no estudo

TANQUE	GRUPO	TRATAMIENTO + TEMPO RECUPERACIÓN
1	Control no estres	7 días sen estrés
2	Estres	7 días estres
3	Estrés +recuperación	7 días estres + 2h de recuperación
4	Estrés +recuperación	7 días estres + 6h de recuperación
5	Estrés +recuperación	7 días estres + 24h de recuperación
6	Estrés +recuperación	7 días estres + 72h de recuperación
7	Control no estres	10 días sen estrés
8	Estres	10 días estres

Pasado os tempos de tratamento procedeuse ao móstreo tomando un total de 10 troitas de cada grupo. Os peixes foron anestesiados no tanque utilizando 2-fenoxietanol ao 0.2% v/v e xusto despois tomáronse mostrás de sangue de cada peixe mediante punción na vea caudal. De seguido os animais foron sacrificados, por decapitación e o cerebro foi diseccionado para recoller mostrás de hipotálamo. As mostrás conxeláronse mediante xeo seco e seguidamente foron almacenadas a -80 °C. O plasma sanguíneo obtívose mediante centrifugación das mostrás do sangue, sendo despois almacenado a -80 °C.

Análise de cortisol, glucosa e lactato no plasma

Os niveis plasmáticos de cortisol foron analizados utilizando un test ELISA (Cayman Europe, Tallin, Estonia) que foi validado previamente polo noso grupo de investigación mediante o estudo de dilucións seriadas. Os niveis de glicosa e lactato no plasma foron cuantificadas mediante técnicas espectrofotométricas utilizando kits comerciais.

Niveis dos neurotransmisores e os seus metabolitos no hipotálamo

As mostrás dos tecidos para o análise das aminas homoxeneizaronse mediante disrupción ultrasónica en fase móbil para HPLC. Da mestura resultante retirouse o sobrenadante, o cal foi diluída en nova fase móbil para alcanzar o rango desexado de concentración. A mestura final foi inxectada (20 µL) no sistema de cromatografía. Determináronse os contidos de DA, DOPAC, 5-HT e 5HIAA no tecido hipotalámico mediante unha técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase inversa, con detección electroquímica, conforme a un método descrito previamente (Gesto *et al.*, 2008). Os datos obtidos foron normalizados segundo o contido proteico obtido previamente mediante o método do ácido bicinconínico.

Análise estatístico

Utilizouse unha ANOVA dunha vía, seguido dun test de comparacións múltiples (Student-Newman-Keuls), tomando como diferenzas significativas aquelas cun valor de P<0,05. Este traballo foi feito empregando o software estatístico Sigmaplot (V11.0)

Resultados

Niveis de cortisol e metabolitos no plasma sanguíneo

Os niveis plasmáticos de cortisol, glicosa e lactato no plasma sanguíneo das troitas estresadas durante 7 e 10 días, xunto cos respectivos controis, amosanse na Figura 4. O cortisol tivo aumentos significativos tanto a 7 días como a 10 días, mentras que na glicosa non observamos diferenzas significativas entre as concentracións no plasma sanguíneo nos dous grupos estresados, aínda si un aumento significativo no grupo control de 10 días, o cal non podemos relacionar coas situacións inducidas experimentalmente. No caso dos niveis de lactato no plasma, foi observado un aumento significativo nos niveis do grupo de 10 días de estrés con respecto o control, aínda que este efecto non se notou no estrés a 7 días.

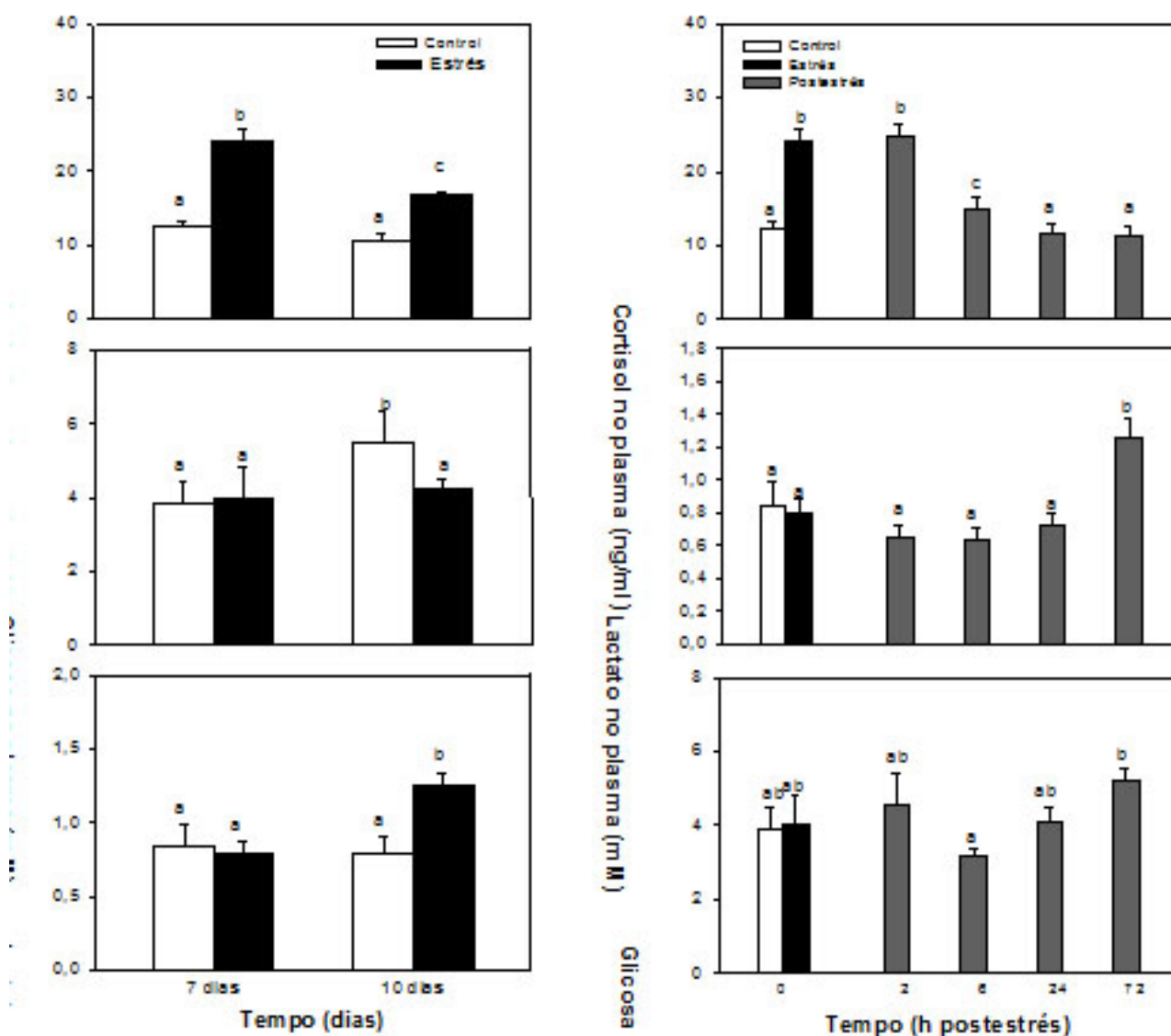


Figura 4. Dereita. Niveis de cortisol, glicosa e lactato en plasma sanguíneo nos grupos estresados (7 e 10 días) e os respectivos controis. Esquerda. Niveis de cortisol, glicosa e lactato en plasma sanguíneo nos tempos post-estrés (2, 6, 24 e 72h). Os datos representan o promedio \pm E.E.M (n=10). Letras diferentes indican diferenzas significativas.

Na Figura 4 tamén se mostran os niveis de cortisol, glicosa e lactato dos diferentes grupos experimentais empregados para avaliar a dinámica da recuperación do estrés. A gráfica inclúe un grupo de peixes control, un grupo de peixes estresados durante 7 días, e catro grupos de peixes estresados

durante 7 días os que logo se lles anulou a situación de estrés, e que foron monitorizados nas seguintes 2, 6, 24 e 72 h (grupos nomeados como de “post-estrés”). No caso do cortisol, atopamos un grande aumento da hormona no grupo estresado de 7 días en comparación co respectivo control, o cal se mantivo alomenos durante 2 horas post-estrés.

Observouse un decrecemento forte nos niveis desta hormona no grupo de 6 horas post-estrés, aínda que continuaron a ser estatisticamente máis elevados que os do control, chegando a acadar as 24 h valores próximos a éste.

Os niveis circulantes de lactato non mostraron diferenzas significativas entre os grupos control e estrés de 7 días. Tampouco se viron cambios nos grupos post-estrés agás na derradeira medición de 72 horas, na que os niveis deste metabolito foron incrementados respecto aos tempos previos e aos niveis do control. Con respecto os niveis de glicosa circulantes, non temos diferenzas significativas entre os grupos control e estresado, nin destes con respecto aos grupos post-estrés, aínda que aparece unha subida dos niveis deste composto no tempo de 72 horas tras a situación de estrés en comparación cos atopados a 6 horas.

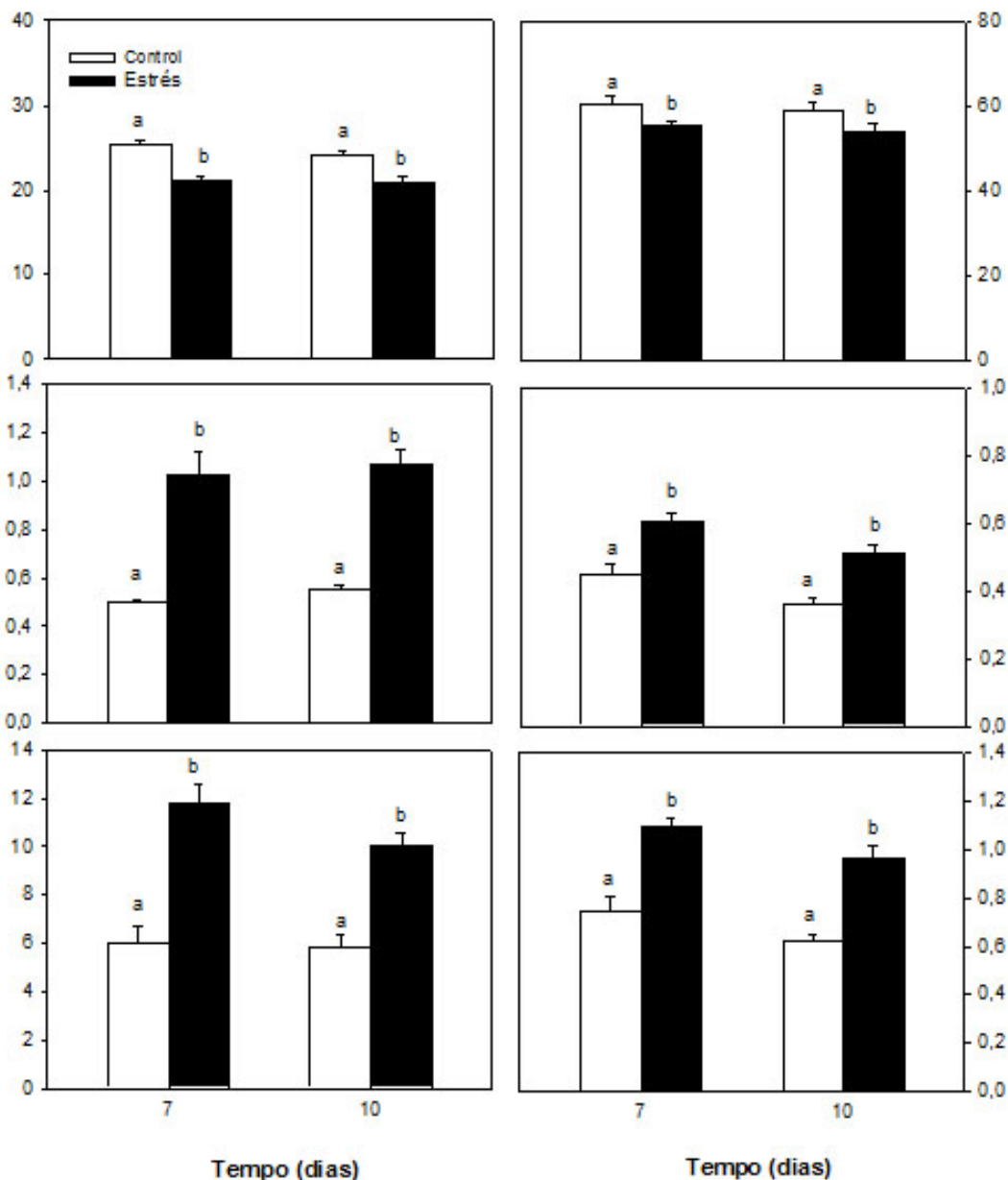


Figura 5. Niveis de dopamina, serotonina, e os seus metabolitos no hipotálamo de troitas estresadas (7 e 10 días) fronte os respectivos controis. Os datos representan o promedio \pm E.E.M (n=10). Letras diferentes indican diferenzas significativas entre grupos.

Os niveis hipotalámicos de serotonina e dopamina (Figura 5) sufriron un descenso significativo debido ao estrés (7 e 10 días) en comparación cos respectivos grupos control. No caso dos metabolitos oxidativos das monoaminas se obtiveron aumentos significativos nos dous tempos de estrés, os cales foron moito mais acusados no caso do DOPAC que no 5-HIAA. Os ratios de actividade indícanos tamén unha subida significativa, tanto no sistema serotoninérxico como no dopaminérxico, promovida polo estrés.

Unha vez rematada a situación de estrés, as actividades dos sistemas monoaminérxicos hipotalámicos, tanto o serotoninérxico como o dopaminérxico, volven aos niveis do grupo control (Figura 6) nas seguintes 6 horas. No caso do sistema dopaminérxico o descenso ocorre dun xeito rápido, xa que ás 2 horas postestrés se atoparon niveis máis baixos dos que aparecen no grupo estresado de 0 horas, aínda que superiores aos do control. Pola contra, no sistema serotoninérxico a recuperación non se evidenciou ata pasadas 6 horas tras a situación de estrés, sendo os valores no grupo de 6 horas totalmente similares aos do control.

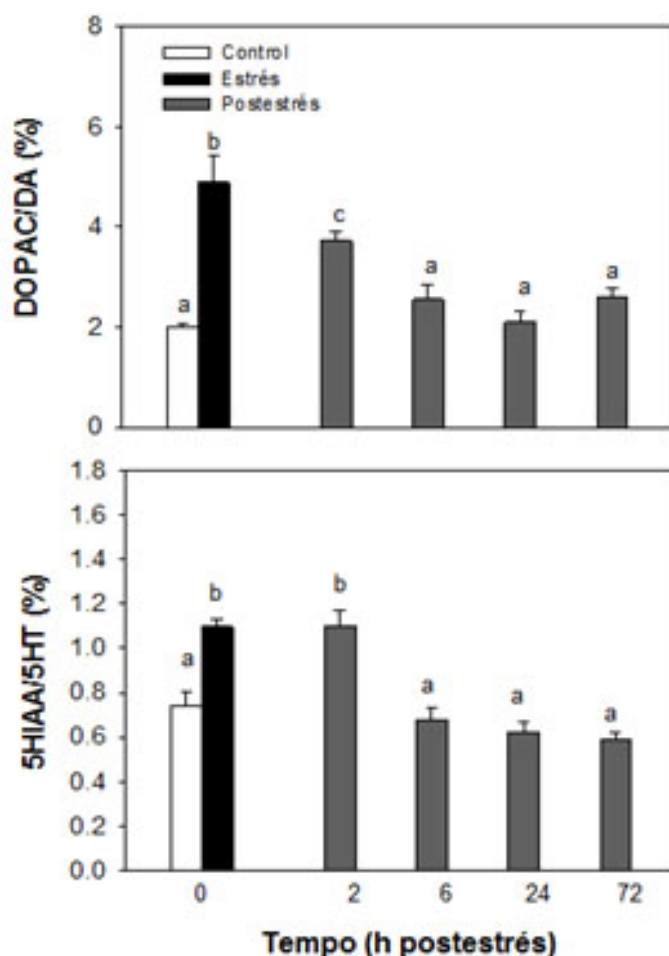


Figura 6. Actividade dopaminérxica (relación DOPAC/DA) e serotoninérxica (relación 5-HIAA/5-HT) en hipotálamo de troitas arco da vella nos tempos post-estrés (2, 6, 24 e 72h) en controis estresados e non estresados (tempo 0). Os datos representan o promedio \pm E.E.M (n=10). Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos.

Discusión

O deseño experimental de estrés crónico por altas densidades de individuos foi axeitado, xa que produciu os cambios esperados nos niveis de cortisol en plasma. Esta hormona é o principal indicador das situacións de estrés nos peixes e os seus niveis adoitan permanecer elevados longo tempo (Iwama *et al.*, 2006). Neste estudo demostramos que o estrés elevou os niveis de cortisol plasmático de forma rápida, sendo moi evidente o aumento aos 3 días e se atenuou o persistir o efecto estresante durante 10 días.

Unha vez desapareceu o estímulo estresante, as concentracións de cortisol do plasma sanguíneo reducíronse totalmente nun período de tempo de 24 h. O decaemento na concentración da hormona é progresiva, é dicir, vai desaparecendo paulatinamente do corpo do animal unha vez cesa o estrés, manténdose en niveis similares aos do estrés nas dúas primeiras horas e comezando a baixada a partir dese momento. Esta dinámica temporal na redución dos niveis de cortisol durante o estrés a longo prazo seguiu o mesmo perfil que o atopado nesta especie durante o estrés a curto prazo (Gesto *et al.*, 2013).

Os cambios atopados nos niveis de cortisol durante o estrés tiveron pouca incidencia nos niveis circulantes de glicosa e lactato. Aínda que estes metabolitos adoitan a incrementarse nas situacións de estrés a curto prazo (Conde-Sieira *et al.*, 2010) é posible que a máis longo prazo ese efecto se vexa minguado pola redución da inxestión que produce o estrés, o que puido acontecer para a falta de cambios fortes nos niveis de glicosa e lactato.

Os neurotransmisores monoaminérxicos cerebrais adoitan ter un papel chave na integración dos sinais de estrés nos peixes, e o hipotálamo parecen ser unha das rexións cerebrais máis determinantes deste proceso. No caso dos sistemas dopaminérxico e serotoninérxico, os cambios nas actividades neuronais reflicten mediante cambios nos niveis dos neurotransmisores (DA, 5-HT) e nos seus metabolitos oxidativos (DOPAC e 5-HIAA), de xeito que as relacións metabolito/amina son uns bos indicadores da actividade neuronal (Øverli *et al.*, 2005; Ortega *et al.*, 2005). No caso da troita arco da vella, o estrés agudo foi mostrado por incrementar os valores de ditas relacións no hipotálamo, de forma que se puxo en evidencia a capacidade dos sistemas monoaminérxicos como sensores do estrés a curto prazo (Gesto *et al.*, 2013, 2015). Os datos presentes confirman que a resposta monoaminérxica tamén se incrementa a longo prazo tal e como demostran os aumentos dos indicadores DOPAC/DA e 5-HIAA/5-HT a 7 e 10 días. Ademais o estudo permite concluír que son tanto as mermas nos niveis das aminas (DA, 5-HT) coma os aumentos nos metabolitos oxidativos (DOPAC, 5-HIAA) os que provocan o incremento das relacións monoaminérxicas. Todo isto indica claramente que na situación de estrés crónico estase a usar con máis intensidade o neurotransmisor sináptico ou o que é o mesmo, que é máis elevada a actividade neuronal monoaminérxica.

Unha vez demostrada a implicación da dopamina e da serotonina crónico avaliamos, pois, parámetros relacionados con sistemas monoaminérxicos unha vez cesa o estímulo estresante, é dicir, no período de post-estrés (ata 72 h desde que desaparece o estrés). En base aos resultados obtidos no presente estudo demostrábase que unha vez cesa o estrés restablécense os niveis basais de actividade monoaminérxica de forma progresiva e nun período curto, sempre inferior a 6 h. No caso da actividade dopaminérxica a merma na mesma semella ser máis rápida, xa que tras dúas horas nótase un decaimento significativo, mentres que na serotoninérxica recupéranse os niveis nun tempo máis longo, máis próximo as seis horas.

Existen estudos que demostran que as monoaminas cerebrais, en particular a serotonina, teñen un papel importante na regulación do eixo HPI (De Pedro e Björnsson, 2001; Øverli *et al.*, 2005) o que implica que os cambios nos neurotransmisores poderían ter un reflexo en cambios nos niveis de cortisol (hormona regulada polo eixe HPI). Neste senso, é interesante analizar a forte correlación que existe entre a dinámica de recuperación da actividade dopaminérxica e serotoninérxica no período post-estrés e a dos niveis de cortisol. Polo tanto os datos claramente apuntan a un papel destas aminas na regulación da síntese de cortisol, tanto na súa activación como na desactivación unha vez remata a situación de estrés.

En resumo, no presente traballo se obteñen novas evidencias na troita arco da vella, un modelo fisiolóxico de peixe teleosteo, sobre o funcionamento dos sistemas monoaminérxicos a nivel central durante o estrés a longo prazo e, especialmente, nun período de post-estrés. Os resultados obtidos neste traballo apoian o papel das monoaminas como sensores, activadores e desactivadores da resposta fisiolóxica ao estrés a nivel encefálico. Son necesarios estudos posteriores para estudar máis ao miúdo a implicación dos sistemas monoaminérxicos no incremento dos niveis de cortisol durante o estrés.

Bibliografía

- Barton B.A. (2002) Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integr. Comp. Biol.* 42: 517–525.
- Bernier, N.J. (2006). The corticotropin-releasing factor system as a mediator of the appetite-suppressing effects of stress in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 146: 45–55.
- Conde-Sieira, M., Aguilar, A.J., López-Patiño, M.A., Míguez, J.M., Soengas, J.L. (2010). Stress alters food intake and glucosensing response in hypothalamus, hindbrain, liver, and Brockmann bodies of rainbow trout. *Physiol. Behav.* 101: 483–493.
- De Pedro N., Björnsson B.T. (2001). Regulation of food intake by neuropeptides and hormones. En: Food intake in fish. Houlihan D.F., Boujard T., Jobling M. (eds), Blackwell Science, Oxford. 269-296.
- Gesto M., Soengas J.L., Míguez J.M. (2008). Acute and prolonged stress responses of brain monoaminergic activity and plasma cortisol levels in rainbow trout are modified by PAHs (naphthalene, β -naphthoflavone and benzo(a)pyrene. *Aquat. Toxicol.* 86: 341–351.
- Gesto M., Lopez-Patiño M.A., Hernandez J., Soengas J.L., Míguez J.M. (2013). The response of brain serotonergic and dopaminergic systems to an acute stressor in rainbow trout: a time course study. *J. Exp. Biol.* 216: 4435–4442.
- Gesto, M., López-Patiño, M.A., Hernández, J., Soengas, J.L., Míguez, J.M. (2015) Gradation of the stress response in rainbow trout exposed to stressors of different severity: The role of brain serotonergic and dopaminergic dystems. *J. Neuroendocrinol.* 27: 131-141
- Iwama, G.K., Afonso, L.O.B. and Vijayan, M.M. (2006). Stress in fishes. En: Evans D.H., Claiborne, J.B. (eds). *The Physiology of Fishes*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 319-342
- Leal, E., Fernández-Durán, B., Agulleiro, M.J., Conde-Siera, M., Míguez, J.M., Cerdá-Reverter, J.M. (2013). Effects of dopaminergic system activation on feeding behavior and growth performance of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). A self-feeding approach. *Horm. Behav.* 64: 113-121
- López-Patiño, M.A., Conde-Sieira, M., Gesto, M., Librán-Pérez, M., Soengas, J.L., Míguez, J.M. (2013). Melatonin partially minimizes the adverse stress effects in Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture* 388-391: 165-172.
- Morton, G.J., Cummings, D.E., Baskin, D.G., Barsh, G.S., Schwartz, M.W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443: 289-295.
- Ortega VA, Renner KJ, Bernier NJ. (2005). Appetite-suppressing effects of ammonia exposure in rainbow trout associated with regional and temporal activation of brain monoaminergic and CRF systems. *J. Exp. Biol.* 2058: 1855-1866.
- Øverli Ø., Winberg S., Pottinger T.G. (2005). Behavioural and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout - a review. *Integr. Comp. Biol.* 45: 463–474.
- Randall, D. J., Perry, S. F. (1992). Catecholamines. En: Randall D.J., Hoar W.S. (eds), *Fish Physiology*, vol. XIIB, The Cardiovascular System, Academic Press, New York. pp. 255–300.
- Reid S.G., Vijayan M.M, Perry S.F. (1996). Modulation of catecholamine storage and release by the pituitary-interrenal axis in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Comp. Physiol. B* 165: 665-676.
- Stanford, S.C. 2001. 5-hydroxytryptamine (5-HT). En: Webster RA (ed), *Neurotransmitters, drugs and brain function*, Wiley, New York. pp 1987-209..
- Winberg S., Nilsson GE. (1993). Roles of brain monoamine neurotransmitters in agonistic behavior and stress reactions, with particular reference to fish. *Comp. Biochem. Physiol. C* 106: 597-614.
- Wendelaar Bonga SE. (1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77: 591-625.