



AgEcon SEARCH
RESEARCH IN AGRICULTURAL & APPLIED ECONOMICS

The World's Largest Open Access Agricultural & Applied Economics Digital Library

This document is discoverable and free to researchers across the globe due to the work of AgEcon Search.

Help ensure our sustainability.

Give to AgEcon Search

AgEcon Search

<http://ageconsearch.umn.edu>

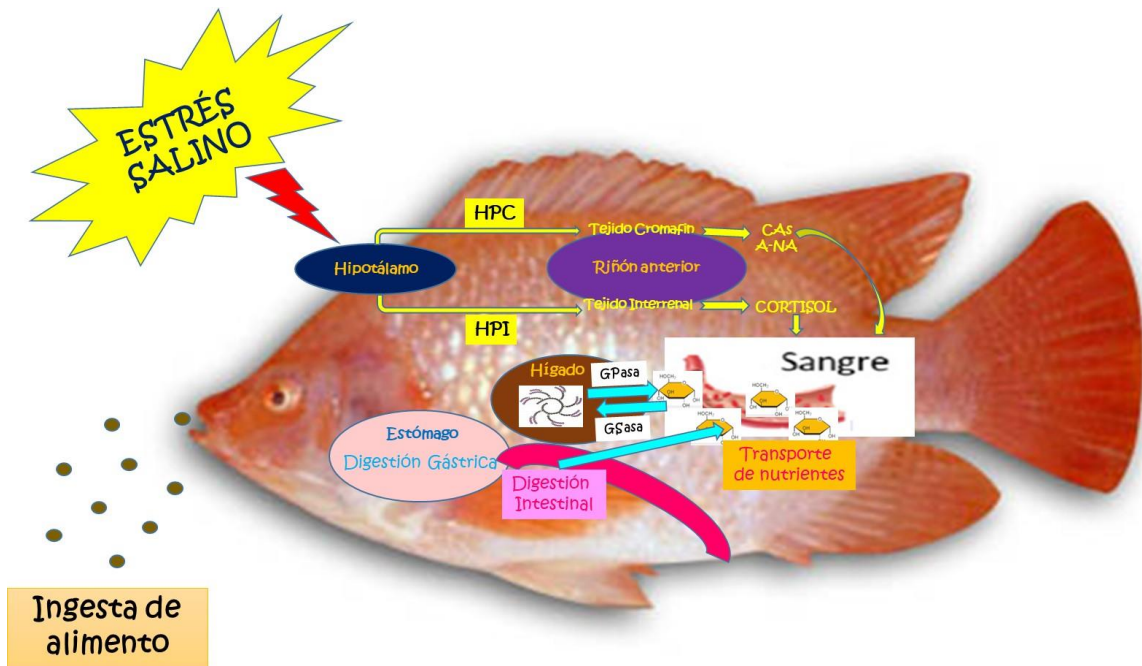
aesearch@umn.edu

*Papers downloaded from **AgEcon Search** may be used for non-commercial purposes and personal study only. No other use, including posting to another Internet site, is permitted without permission from the copyright owner (not AgEcon Search), or as allowed under the provisions of Fair Use, U.S. Copyright Act, Title 17 U.S.C.*



Universidad Nacional Autónoma de
Nicaragua, UNAN-León
Facultad de Ciencias y Tecnología
Departamento de Biología
Maestría Salud de los cuerpos de agua

Memoria de investigación para optar al título de
Magister Scientiae en Salud de los Cuerpos de Agua.

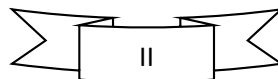


Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).

**Katherinne Osorio Urtecho
2018**



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*





Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

CERTIFICADO

ARIEL JOSÉ AGUILAR, profesor Titular en el Departamento de Acuícola, Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León (UNAN-León),

CERTIFICA:

Que la presente memoria titulada "*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Oreochromis spp. (Tilapia roja)*" presentada por la Lic. Katherinne del Rosario Osorio Urtecho para optar al grado de Magister Scientiae, ha sido realizada bajo mi dirección, y que, hallándose concluida, autorizo su presentación para que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmo el presente en León, a 27 de agosto de 2018.

Dr. Ariel José Aguilar

Katherinne Osorio Urtecho





*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

FINANCIACIÓN

El presente trabajo de investigación ha sido realizado en el Laboratorio de Fisiología Animal, Departamento de Biología, Facultad de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, bajo la dirección del Dr. Ariel José Aguilar. La investigación desarrollada en esta Tesis, ha sido subvencionada por los proyectos:

1. PRESANCA II-CSUCA a través del proyecto "*Relación entre la regulación de la ingesta de alimento en Tilapias (*Oreochromis niloticus*) por factores metabólicos y neuroendocrinos y el estrés producido por factores ambientales*" (código: C5) a cargo del Dr. Ariel José Aguilar.
2. CONICYT, Nicaragua a través del proyecto "*Inducción a la reproducción del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) en condiciones de laboratorio*" a cargo del Dr. Ariel José Aguilar.
3. Fundación LIDER, Amigos de la Tierra y ECODES a través del proyecto de la Unión Europea denominado "*Fortalecimiento al desarrollo económico de cooperativas y mipymes que participan en 7 cadenas de valor incluyentes, aplicando enfoques de sostenibilidad y adaptación al cambio climático y de igualdad de género de la producción agropecuaria y pesquera en las zonas vulnerables ante la sequía de las segovias y occidente del país*".



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo investigativo a:

Mis padres Albin Osorio y Yadira Urtecho de Osorio, por su apoyo incondicional, por todo el sacrificio y esmero que han realizado en pro de mi desarrollo profesional, espiritual y moral.

A mis abuelos Carlos Osorio, Rosario Zapata, Reyna Condega y Hermógenes Urtecho por sus oraciones y todo su apoyo.

A mi hermanito Albin Osorio Urtecho esperando siga mis pasos.

¡A mis familiares y amigos!

Lic. Katherinne del Rosario Osorio Urtecho



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



AGRADECIMIENTO

Gracias infinitas a mi Padre Celestial por darme el aliento de vida, la sabiduría y la inteligencia y las bendiciones que me han permitido culminar una meta más en mi vida. Por otra parte enumerar y agradecerles a todas aquellas personas que me han ayudado a finalizar este trabajo sería una labor poco menos interminable. Es por ello que me limitare a mencionar a aquellas personas cuya contribución ha sido más significativa.

Mil gracias a mi mentor y tutor de esta investigación el Dr. Ariel José Aguilar por haberme dado la oportunidad de ser parte del grupo de investigación del Laboratorio de Fisiología Animal, gracias por su ayuda prestada y atención en todo momento, por sus palabras de ánimo, su optimismo, por no ser egoísta y trasmitirme sus conocimientos y consejos tanto para la vida laboral como enseñanza para la vida diaria y, en fin, gracias por formar parte de esta etapa de mi formación profesional que, pese a todas las vicitudes que se presentaron la he culminado con mucho éxito y continuo confiando en Dios que lo mejor está por venir.

Gracias de manera especial a mis amigas y colegas MSc. Karen Palacios e Ing. Dalia Lumbí por todo su apoyo incondicional y estrecha amistad. Asimismo, quiero agradecer a Doña Martha Salazar por alegrarnos cada día y alentarnos a seguir adelante (Mejorando pero siempre igual).

De igual forma, quiero agradecerles a mis amigos y colegas Ing. Marlon Albarenga e Ing. Jaime López por todo su apoyo brindado tanto en Honduras como en Nicaragua, sin duda alguna que queda para la historia la experiencia inolvidable de 24 horas de trabajo sin parar que realizamos en conjunto con Karen para hacer la toma de muestras de nuestras investigaciones.

Además, agradezco a los excelentes maestros que impartieron clases en la maestría, el conocimiento que nos transmitieron es invaluable. Gracias a mis compañeros por todo lo convivido durante los dos años en la maestría.

Asimismo, quiero agradecerles a mis estimados profesores MSc. Emilia Calvo y MSc. Jorge Boza de la UNA-CR por todo su aprecio, sus consejos, por compartirnos su conocimientos y siempre estar pendientes de mí y de todo el que hacer del grupo de investigación del Dr. Aguilar, un privilegio enorme el conocerles y tenerles como amigos.



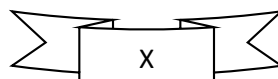
*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

También quiero agradecer de manera especial a mis estimadas profesoras Dra. Carmen Rojo y Dra. Pilar Ruíz de la Universidad de Valencia, la sinergia de trabajo que logramos entre el grupo de investigación del Laboratorio de Fisiología animal y ustedes es agradable. Mil gracias por todos sus consejos, por su aprecio, por transmitirnos sus conocimientos y celebrar los logros del grupo de investigación y alentarnos a seguir adelante cuando las cosas no han ido muy bien. No me cabe la menor duda que la última visita (abril) que hicieron en mi bella tierra de Nicaragua nos será inolvidable. Gratos momentos los que compartí junto a ustedes, MSc. Bruno Amaro, el profe (Dr. Aguilar), Karen y Dalia espero y se repita. Mis estimadas maestras su amistad es una bendición.

Y por último pero no menos importante quiero agradecerles a mis padres Albin y Yadira Osorio, a mi hermano Albin, mis familiares y amigos que me han acompañado en este proceso de forma incondicional, comprendiéndome, apoyándome, alentándome a seguir adelante en los buenos y malos momentos. Mil gracias a mi flaco Juan Carlos Dubón por todo tu apoyo y porque siempre me has alentado a seguir adelante.

¡A todos muchísimas Gracias!

Katherine Osorio Urtecho





*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



ABREVIATURAS

- A:** Adrenalina
ACH: Acetilcolina
ACTH: Hormona adrenocorticotropa
ANOVA: Análisis de varianza con un factor
ATP: Adenosina 5´-trifosfato
°C: Grados centígrados
cAMP: AMP cíclico
cAPK: Proteincinasa
CAs: Catecolaminas
COMT: Catecol-o metiltransferasa
CRF: Hormona libertadora de corticotropina
EEM: Error Estándar de la Media
DA: Dopamina
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
G6P: Glucosa 6-fosfato
G6Pasa: Glucosa 6-fosfatasa
GIFT: Tilapia genéticamente mejorada
GK: Glucoquinasa o hexoquinasa
GLUT: Transportador facilitado de glucosa independiente de sodio
GPasa: Glucógeno fosforilasa
GSasa: Glucosa-6-fosfatasa
GPK: Glucógeno fosforilasa quinasa
gr: Gramos
GR: Receptor de glucocorticoides
5HT: Serotonina
h: horas
HK: Hexoquinasa I
HPA: Eje hipotálamo-pituitario-adrenal
HPC: Eje hipotálamo-pituitaria-cromafin
HPI: Eje hipotálamo-pituitaria-interrenal



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

5HT: Serotonina 5HT

IgM: Inmunoglobulina M

K_{ATP}: Canal de potasio dependiente de ATP

KHCO₃: Bicarbonato de potasio

Km: Kilómetros

L: Litros

LDH: Lactato deshidrogenasa

L-Dopa: 3,4-dihidroxifenilalanina

MAO: Monoamina oxidasa

MCT: Transportador de monocarboxilatos

mg: Miligramos

Min: Minutos

mM: Milimolar

mL: Mililitros

MSH: Hormona liberadora de melanocitos

MS222: Ester etílico del ácido 3-aminobenzoico

MR: Receptor de mineralocorticoides

n: Número de organismos

N: Normalidad

NA: Noradrenalina

nm: Nanómetros

NPY: neuropéptido Y

OD: Oxígeno Disuelto

O₂: Oxígeno molecular

PCA: Ácido perclórico

pH: Logaritmo negativo de la base 10 de la actividad de los iones de hidrógenos

PEPCK: Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

PK: Piruvato quinasa

ppt: Partes por mil

POMC: Proopiomelanocortina

rpm: Revoluciones por minutos

SNC: Sistema nervioso central



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

SNE: sistema nervioso entérico

sp: Especie

spp: Especies

StAR: Steroidogenic acute regulatory protein

TAG-lipasa: Triacilglicerol lipasa

TE: Tanques experimentales

TGI: Tracto gastrointestinal

UDPGlc: Uridina difosfato glucosa

UDP: Uridina difosfato

UTP: Uridina trifosfato

μl: Microlitros



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



LISTA DE FIGURAS

Nº de figura		Nº pág.
Nº1	Esquema del tracto digestivo de un pez provisto de estómago.	9
Nº2	Sección transversal, generalizada, del intestino de los vertebrados revela una pared de múltiples capas con abundante tejido muscular.	11
Nº3	Diferencias entre el tracto digestivo de un pez carnívoro de un pez herbívoro.	13
Nº4	Transporte intestinal de glucosa se da a través de la proteína transportadora Sodio (Na ⁺)/glucosa.	22
Nº5	Absorción intestinal de ácidos grasos de cadena larga.	23
Nº6	Absorción intestinal de Proteínas.	24
Nº7	Vías metabólicas de la glucosa.	28
Nº8	Principales rutas y productos terminales del metabolismo de glucosa.	30
Nº9	Ruta gluconeogénica.	32
Nº10.	Estructura del Glucógeno.	33
Nº11	Síntesis de glucógeno.	34
Nº12	Degradación del glucógeno.	36
Nº13	Interacción metabólica entre los astrocitos y las neuronas.	38
Nº14	Mecanismo de glucosensibilidad en las células β -pancreáticas descrito en mamíferos.	39
Nº15	Fases del Síndrome General de adaptación.	43
Nº16	Elementos neuroendocrinos implicados en la respuesta primaria al estrés en los peces teleósteos.	47
Nº17	Ruta de biosíntesis de las catecolaminas.	49
Nº18	Acción de acetilcolina al unirse a su receptor.	50
Nº19	Esquema de la respuesta fisiológica al estrés en peces.	54



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Nº20	Mecanismo de acción de la adrenalina conduce a la liberación enzimática de glucosa en el interior de un hepatocito.	55
Nº21	Síntesis de cortisol en una célula estereoidogénica.	59
Nº22	Tipos de respuestas a estrés en los diferentes niveles de organización biológica.	64
Nº23	Fluctuación de la concentración del glucógeno hepático en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt.	73
Nº24	Concentración de glucógeno hepático por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.	74
Nº25	Fluctuación de la concentración del glucógeno cerebral en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt	75
Nº26	Concentración de glucógeno por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.	76
Nº27	Correlación del metabolismo del glucógeno hepático y cerebral ante diferentes concentraciones salinas.	77



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



ABSTRACT

The aim of the present investigation was to obtain evidence, for the first time in red tilapia (*Oreochromis spp.*) on the effect of salinity 0 (T1), 10 (T2) and 20 ppt (T3) on the metabolism of glycogen in brain and liver, after the food intake. The fish (150 ± 10 g of weight) were obtained in the Tilapia production farm, TILAPAC-Honduras. They were placed in a battery of 6 experimental tanks (ET) for each salt concentration, $n = 8$. Prior to the experiment, the fish were not fed for 48 hours (h). Subsequently, the fish were anesthetized using MS-222. The brain and liver samples were taken and frozen at -30°C for the evaluation of glycogen levels from 0 h to 20 h with an interval of 4 h, between samples (1 ET = 4 h). The results show that at 0 and 10 ppt of salinity, glycogen levels increase in the liver at 4 and 12 h, respectively; while in the brain the increase was observed at 16 h postprandial (0 and 10 ppt) and at 12 h in 20 ppt. The fish at 20 ppt of salinity showed lower levels of liver glycogen than those placed at 0 and 10 ppt at 0, 4, 16 and 20 h postprandial; while in the brain this phenomenon was only observed at 4 and 8 h. There is a correlation between the fluctuation of glycogen levels throughout the experimental period between 0 and 10 ppt of salinity, in the liver ($R: 0.85, P = 0.03$) and brain ($R: 0.994, P = 0.00005$). Finally, the low levels of hepatic glycogen in 20 ppt of salinity suggest the probable activation of the HPI and HPC axes for the maintenance of osmoregulation. Therefore, tilapia cultivated in 20 ppt could present stress levels higher than those cultivated at 0 ppt and 10 ppt salinity.

Keywords: glycogen, intake, stress.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



RESUMEN

El objetivo de la presente investigación consistió en obtener evidencias, por primera vez en tilapia roja (*Oreochromis spp.*), sobre el efecto de la salinidad 0 (T1), 10 (T2) y 20 ppt (T3) sobre el metabolismo del glucógeno en tejido cerebral y hepático, tras la ingesta de alimento. Los peces (150 ± 10 g de peso) se obtuvieron en la Finca de producción de Tilapia, TILAPAC-Honduras. Se colocaron en una batería de 6 tanques experimentales (TE) por cada concentración salina, $n=8$. Previo al experimento los peces no se alimentaron durante 48 horas (h). Posteriormente, los peces fueron anestesiados usando MS-222. Se procedió a tomar las muestras de cerebro e hígado y se congelaron a -30 °C para la evaluación de los niveles de glucógeno desde las 0 h hasta las 20 h con un intervalo de 4 h, entre muestreo (1 TE= 4h). Los resultados muestran que en 0 y 10 ppt de salinidad los niveles de glucógeno incrementan en hígado a las 4 y 12 h, respectivamente; mientras que en cerebro el incremento se observó a las 16 h postprandial (0 y 10 ppt) y a las 12 h en 20 ppt. Los peces ubicados en 20 ppt, presentaron niveles de glucógeno hepático inferiores a los ubicados en 0 y 10 ppt en 0, 4, 16 y 20 h postprandial; mientras que en cerebro solamente se observó este fenómeno a las 16 y 20 h. Existe correlación entre la fluctuación de los niveles de glucógeno en todo el período experimental entre 0 y 10 ppt de salinidad, en hígado ($R:0.85$; $P=0.03$) y cerebro ($R:0.994$; $P=0.00005$). Finalmente, los bajos niveles de glucógeno hepático en 20 ppt de salinidad, sugieren la probable activación de los ejes HPI y HPC para el mantenimiento de la osmorregulación. Por consiguiente, las tilapias cultivadas en 20 ppt podrían presentar niveles de estrés mayores a las cultivadas en 0 ppt y 10 ppt de salinidad.

Palabras claves: glucógeno, ingesta, estrés.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



ÍNDICE

CERTIFICADO	III
FINANCIACIÓN	V
DEDICATORIA	VII
AGRADECIMIENTO	IX
ABREVIATURAS.....	XII
LISTA DE FIGURAS	XVI
ABSTRACT.....	XIX
RESUMEN	XXI
ÍNDICE	XXIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo general	6
2.2 Objetivos específicos	6
3. MARCO TEORICO	7
3.1 Sistema Digestivo	8
3.1.1 Anatomía del tracto digestivo: aspectos generales	8
3.1.2 El tracto gastrointestinal en peces.	12
3.1.3 Fisiología digestiva y absortiva de nutrientes.	13
3.2 Metabolismo energético en peces teleósteos	24



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3.2.1 Metabolismo de carbohidratos.....	24
3.3 Estrés en peces.....	42
3.3.1 Agentes estresantes	44
3.3.2 Estrés y la activación de los sistemas neuroendocrinos de respuestas. 46	
4. MATERIALES Y METODOS	66
4.1 Animales de estudio	67
4.2 Diseño experimental y toma de muestra	67
4.3 Determinaciones analíticas	68
4.3.1 Cuantificación de los niveles de metabolitos.	68
4.4 Análisis estadísticos.....	69
5. RESULTADOS	71
5.1 Fluctuación de la concentración del glucógeno hepático en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt.	72
5.1.1 Concentración de glucógeno hepático por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.....	74
5.2 Fluctuación de la concentración del glucógeno cerebral en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt.	75
5.2.1 Concentración de glucógeno cerebral por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.....	76
5.3 Correlación del metabolismo del glucógeno hepático y cerebral ante diferentes concentraciones salinas.	77



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

6.	DISCUSIÓN	79
6.1	Caracterización preliminar del estudio:.....	80
6.2	Hígado.....	82
6.3	Cerebro	84
7.	CONCLUSIONES.....	88
8.	RECOMENDACIONES.....	91
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

1. INTRODUCCIÓN



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Las tilapias son el segundo grupo de peces más producidos en la actividad acuícola, con una contribución a la producción de aproximadamente el 20% del volumen total de peces (FAO, 2016). En este sentido, Molina y Ramos (2008) señalaron que el cultivo de tilapia es una alternativa ventajosa para la producción de proteína sana y barata debido a que presentan una alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, fácil reproducción, alta resistencia a enfermedades, alta productividad y rápida aceptación a todo tipo de alimentos, tanto naturales como artificiales (FAO, 2012/2016). Asimismo, las tilapias han venido siendo modificada genéticamente para resistir ambientes adversos, tal es el caso de la tilapia roja que es producto del cruce de cuatro especies de tilapia (Molina y Ramos, 2008).

Los peces teleósteos, en general, son considerados intolerantes a la glucosa debido a que estos son incapaces de disminuir rápidamente los niveles de glucosa circundantes después de una carga de glucosa o tras la ingesta de alimento con altos niveles de carbohidratos (Moon, 2001). En peces, el grado en que los carbohidratos son usados es dependiente de la especie y de su capacidad para metabolizarlos (Moon, 2001; Polakof, 2008a; Yong-Jun et al., 2017). En el tejido animal, la glucosa es transportada por el torrente sanguíneo y se difunde a través de las membranas plasmáticas usando los transportadores específicos (GLUT) o a través de los SGLT presentes en los tejidos de los diferentes sistemas de órganos; posteriormente es fosforilada a glucosa-6-fosfato (G6P) por las enzimas hexoquinasa que juegan un papel importante en el control de la homeostasis de glucosa (Panserat et al., 2000a). Tanto en mamíferos como en peces, el hígado es el principal órgano de reserva de glucosa, en forma de glucógeno y el encargado de distribuirla al resto de los órganos (Mommsen y Plisetskaya, 1991; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Bajo este contexto, numerosos trabajos han puesto de manifiesto, en peces,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

la existencia de glucosensores que participan en el desempeño de la homeostasis glucídica del organismo, debido a que responden a los cambios en la concentración de glucosa para favorecer el proceso de glucólisis y síntesis de glucógeno, o su producción mediante la glucogenólisis y la gluconeogénesis (Polakof, 2008a; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Por consiguiente, en períodos postprandiales, el exceso de la glucosa proveniente de la dieta es almacenada en forma de glucógeno en el hígado o pasa a formar parte de los lípidos (Polakof, 2008a; Conde-Sieira, 2012).

El estrés en acuicultura resulta de las variables físicas, químicas y biológicas, en la calidad del agua y las practicas gerenciales de rutina en el cultivo tales como densidad de siembra, manipulación, clasificación y transporte (Barton, 2002; Aziza y Khaldi, 2010). Asimismo, el estrés puede incrementar la susceptibilidad a enfermedades (Pickering y pottinger, 1987) afectando el crecimiento y la reproducción de los peces (Pankhurst y Van der Kraak, 1997). Domínguez et al. (2004) ponen en evidencia el efecto estresante de diferentes parámetros físicos y químicos sobre los niveles de inmunoglobulina M (IgM) en sangre, debido a que variaciones en la temperatura y la salinidad incrementan la concentración de este anticuerpo. Este efecto podría relacionarse con el bajo porcentaje de sobrevivencia y el pobre crecimiento de *O. niloticus* cultivada en aguas con concentraciones salinas mayores de 10 ppt (Abu et al., 2005). Por tal razón el presente trabajo de investigación pone en evidencia el efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral, tras la ingesta de alimento.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

2. OBJETIVOS



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la salinidad (0, 10 y 20 ppt) sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral de Tilapia roja (*Oreochromis spp.*) tras la ingesta de alimento.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar el comportamiento de los niveles de glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento en un período de 20 horas en diferentes ambientes salinos (0, 10 y 20 ppt).
- ✓ Comparar el metabolismo del glucógeno postprandial en hígado y cerebro de Tilapia roja, presentes en ambientes salinos de 0, 10 y 20 ppt.
- ✓ Correlacionar la fluctuación en el tiempo de los niveles de glucógeno hepático y cerebral entre las concentraciones salinas de 0, 10 y 20 ppt.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3. MARCO TEORICO



3.1 Sistema Digestivo

3.1.1 Anatomía del tracto digestivo: aspectos generales

El tracto digestivo es una estructura tubular en la cual se pueden establecer cuatro zonas bien diferenciadas:

Cavidad oral–Cavidad faríngea (cavidad bucofaríngea): Se encuentra en la región craneal del tubo digestivo y es el aparato encargado de la captación de agua y alimento. Asimismo, está constituido por órganos y estructuras especializadas en la captura y deglución del alimento, tales como la faringe, piezas y cavidad bucal (paladar, mejillas y lengua) y estructuras asociadas (glándulas salivales). Por otro lado, particularmente en los peces su función es compleja debido a la presencia de las branquias, debido a que hay una coordinación entre las mandíbulas, el techo de la boca, los arcos branquiales y el opérculo (Zamora y Rubio, 2009; Muñoz, 2011).

Tracto anterior: Compuesto principalmente por el esófago, encargado de conducir mediante movimientos peristálticos el bolo alimenticio que se produce con la ayuda de las glándulas salivales desde la cavidad bucal o faringe hasta las áreas digestivas (el estómago) (Zamora y Rubio, 2009; Muñoz, 2011).

Tracto medio: Es la porción de mayor longitud y el lugar donde se lleva a cabo la digestión química de proteínas, lípidos y carbohidratos y la absorción de agua y nutrientes. Dicha porción está formada por el estómago (ausente en los ciclóstomos, ciprínidos) (Zamora y Rubio, 2009; Muñoz, 2011).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Tracto posterior: Compuesto por el intestino grueso, encargado de almacenar los restos no digeridos del alimento, absorber el exceso de agua y de reciclar iones inorgánicos, para reincorporarlos a la circulación (Zamora y Rubio, 2009; Muñoz, 2011) (Figura 1).

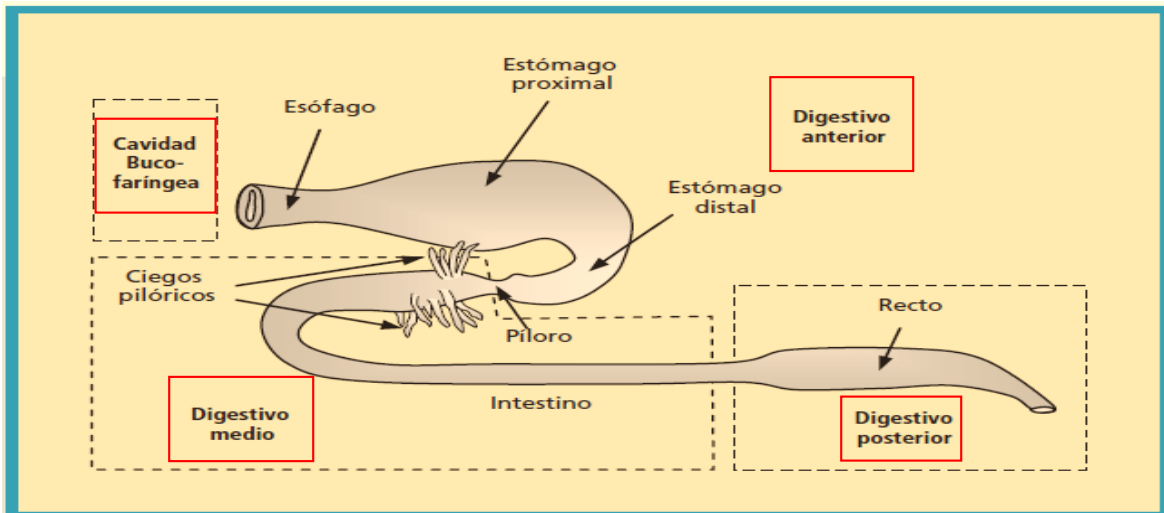


Figura 1. Esquema del tracto digestivo de un pez provisto de estómago. Modificado de Zamora y Rubio (2009).

En otro aspecto, a nivel histológico, el trato digestivo está conformado por cuatro capas:

- Mucosa: Constituida principalmente por las células epiteliales (absortivas, mucosecretoras y endocrinas), tejido conjuntivo laxo areolar, vasos sanguíneos y una delgada capa de músculo liso. En ese contexto, esta capa interna es la de mayor complejidad debido a la cantidad de glándulas que posee según el nivel de tubo digestivo.

- Submucosa: Conecta la mucosa con la capa muscular, ubicada inmediatamente debajo de la capa mucosa y está formada por tejido conjuntivo areolar grueso, tiene también fibras colágenas y elásticas y vasos sanguíneos y linfáticos de mayor calibre.

- Muscular: Es la capa más externa de la mucosa, constituida por dos tipos de epitelios: el de revestimiento y el glandular. El primero



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

es la capa de células más superficial, se encuentra recubriendo la parte interna del tubo digestivo el cual está en contacto con la luz del órgano y con el alimento.

- Serosa: Es la capa que conforma la superficie externa del tubo digestivo (Salinas, 2011; Muñoz, 2011; Dos Santos et al., 2015).

Por otro lado, en el tracto gastrointestinal (TGI) el sistema nervioso entérico (SNE) (conocido como el cerebro intestinal), es el encargado de integrar información sensorial y ejecutar patrones motores complejos, así como de coordinar la actividad intestinal e integrar sensaciones como el apetito, la saciedad y estímulos dolorosos (Campos et al., 2002; Olsson y Holmgren, 2008; Romero et al., 2012). Asimismo, el SNE está organizado en una red interconectada de neuronas y células gliales que se agrupan en los ganglios (Sasselli, 2012), situados en dos plexos principales:

- El plexo submucoso (Meissner), situado entre la capa interna de la capa muscular circular y la submucosa. Su función principal es la regulación de la digestión y la absorción a nivel de la mucosa y los vasos sanguíneos.
- El plexo mientérico (Auerbach), situado entre las capas musculares circular y longitudinal, a lo largo de todo el tubo digestivo. Su función principal es la coordinación de la actividad de las capas musculares (Romero et al., 2012) (Figura 2).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Estos miles de pequeños ganglios se encuentran dentro de las paredes del esófago, estómago, intestino delgado y grueso, páncreas, vesícula y vías biliares. Así como en las fibras nerviosas que conectan estos ganglios, en las fibras nerviosas que irrigan el músculo de la pared del intestino, el epitelio de la mucosa, arteriolas y otros tejidos efectores. (Furness, 2012).

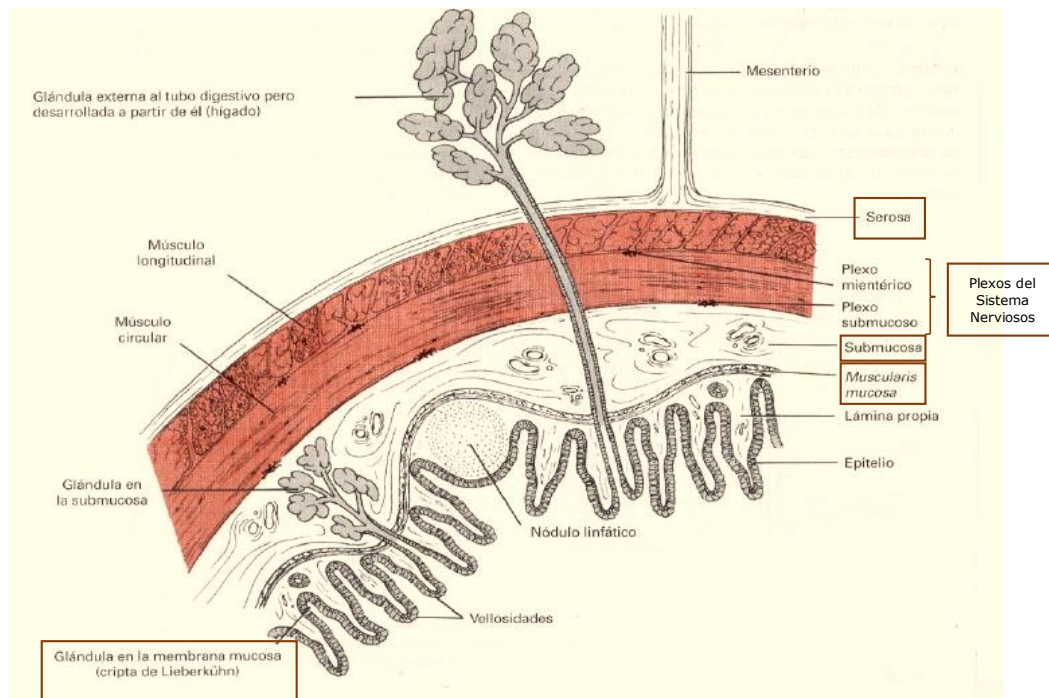


Figura 2. Sección transversal, generalizada, del intestino de los vertebrados revela una pared de múltiples capas con abundante tejido muscular. Modificado de Randall et al. (2002).



3.1.2 El tracto gastrointestinal en peces.

De forma general, la estructura del TGI de los peces es similar al de la mayoría de los vertebrados superiores. Sin embargo, morfológica y fisiológicamente presentan sus particularidades debido a que viven en un medio acuático que determina ciertas especializaciones que faltan en los animales terrestres (Atencio et al., 2008). El TGI en teleósteos es un tubo muscular recubierto por un epitelio cuya función es la recepción y digestión del alimento, el cual inicia desde la boca expandiéndose a través del celoma, finalmente se comunica al exterior por medio de un orificio anal (Olaya et al., 2007). Además, tanto la forma del cuerpo del pez y la de su sistema digestivo dependerá del hábito alimenticio y del tipo de alimento (Logato, 1995; Salinas, 2011; Pineda et al., 2012).

Por otro lado, existen diferencias entre los tipos de sistemas digestivos que radican principalmente: en la complejidad de la digestión del alimento (la cual requiere de mayores tiempos de ruptura, tanto química como mecánica) y en el medio en que se desarrolle el pez (agua dulce y marinos). Bajo ese contexto, se puede diferenciar un pez carnívoro (Garduño et al., 2016) que posee un tracto digestivo corto con el de peces herbívoros como el *Acanthurus nigrofuscus* (Villarreal et al., 2000) y la Tilapia roja *Oreochromis spp.* (Pineda et al., 2012) que poseen un tracto digestivo largo para garantizar la extracción de nutrientes provenientes del material vegetal (Figura 3).

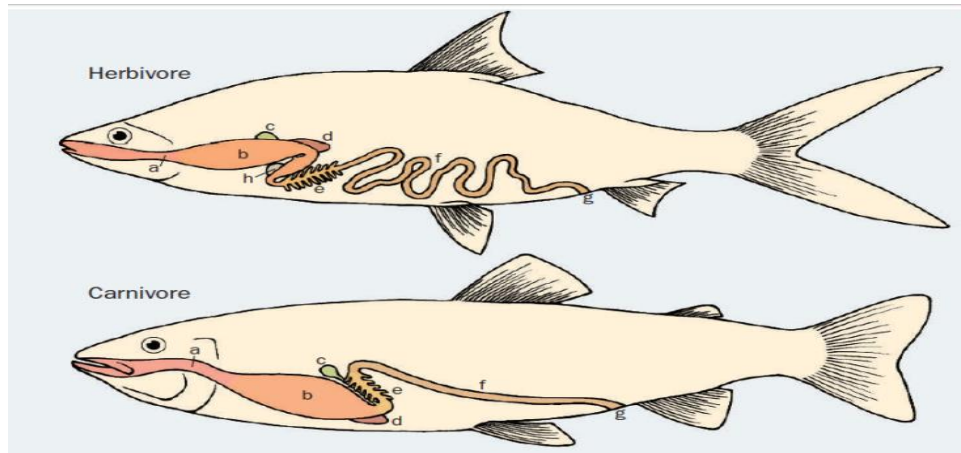


Figura 3. Diferencias entre el tracto digestivo de un pez carnívoro de un pez herbívoro. a) Esófago, b) Estómago, c) Vesícula biliar, d) Bazo, e) Ciegos pilóricos, f) Intestino, g) Ano. Tomado de Videz (2013).

En otro aspecto, se sabe, que a lo largo del tracto digestivo los procesos secretorios son muy abundantes, facilitando el procesado del alimento, por ende su conversión en formas más simples y fácilmente absorbibles (Olaya et al., 2007). Sin embargo, estas secreciones ocurren de forma diferencial a lo largo del TGI (Hill et al., 2009; Herdt, 2009). Por último, es conveniente destacar que, es la presencia del alimento en el tracto digestivo lo que activa factores neuroendocrinos que desencadenan la activación de estas secreciones digestivas (Muñoz, 2011).

3.1.3 Fisiología digestiva y absorptiva de nutrientes.

3.1.3.1 ¿Qué es la digestión?

Es la transformación de las macromoléculas presentes en los alimentos (glúcidos, grasas y proteínas), a través de sucesivas hidrólisis enzimáticas, en moléculas sencillas que se absorben y pasan a la sangre para ser distribuidas a los tejidos (Campos et al., 2002; Karp, 2009).



3.1.3.1.1 Digestión gástrica.

De manera similar a lo que ocurre en mamíferos, en los peces, el alimento ingerido es trasladado por los movimientos peristálticos del esófago al estómago, lugar donde la gastrina estimula el flujo del ácido clorhídrico (HCl) y pepsina para iniciar el proceso de digestión (Herdt, 2009; Takei y Loretz, 2011), mediante la secreción de pepsinógeno (forma inactiva) (Darias et al., 2007) que luego es activado para hidrolizar los enlaces peptídicos de las proteínas que contienen grupos carboxilo de los aminoácidos aromáticos, fenilalanina, triptófano, tirosina y otros, produciendo peptonas y polipéptidos (Sánchez, 2009; Lazo et al., 2011; Zavala et al., 2011).

La lisis ácida es un mecanismo efectivo para la ruptura de las paredes celulares de las algas empleado en especies de peces herbívoros como *Girella laevifrons* y *Scartichthys viridis*, así como en la Tilapia roja *Oreochromis spp.* (Cornejo, 2017) disponiendo de substratos más fácilmente fermentable al entrar en el intestino posterior (Hummel et al., 2006). También es importante mencionar que, la pepsina no es una enzima esencial para la digestión de las proteínas, pues algunos peces realizan dicha digestión en ausencia del estómago (lugar de secreción de pepsina), ejemplo de ello es el sistema digestivo de la carpa común *Cyprinus carpio* que realiza digestión intestinal con la presencia de proteasas alcalinas como la tripsina y quimiotripsina (Costas et al., 2011).

3.1.3.1.2 Digestión intestinal.

En los peces, como en otros vertebrados, en el intestino es donde tienen lugar la mayoría de los procesos químicos que finalizan la digestión total de las partículas alimenticias (Karp, 2009; Murray et al., 2010; Muñoz, 2011; Moguel, 2015). En este contexto, se lleva a cabo una



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

digestión intestinal alcalina, tanto intracelular (enterocitos) como extracelularmente (Lazo, 2000). Dichos procesos químicos se producen gracias a la acción de diferentes enzimas, cuya secreción procede de la pared intestinal o de las glándulas anexas (páncreas e hígado) (Peña, 2005; Lazo et al., 2011).

1.1.3.2.3.2 Secreciones enzimáticas pancreáticas.

Al igual que en el resto de vertebrados, la fase luminal de la digestión de los peces se inicia con la llegada del bolo alimenticio ácido procedente del estómago, estimulando la secreción de enzimas pancreáticas por la estimulación de la hormona colecistoquinina (CCK) (Liddle, 1997; Aguilar et al., 2011, Bakke et al., 2011; Furutani et al., 2012). Zamora y Rubio (2009) y Moguel (2015) hacen referencia que en los peces se secretan las siguientes enzimas pancreáticas, en dependencia del sustrato específico sobre el cual actúan:

❖ **Proteasas**

Las proteasas (tripsina, quimotripsina, colagenasa y elastasa), son secretadas en forma de zimógenos (formas inactivas), que son activados en el interior del intestino mediante la acción de la enteroquinasa (secretada por la pared intestinal) y tripsina, con la finalidad de evitar la degradación *in situ* antes de su liberación (Cuvier y Kestemont, 2002; Evans y Claiborne, 2005; Álvarez et al., 2008; Shan et al., 2009). Es más, German et al. (2004), Moguel (2015), Lucero (2016) y Hani y colaboradores (2018) reportaron que las especies carnívoras, generalmente, presentan niveles más altos de actividad enzimática proteolítica en comparación con los peces herbívoros u omnívoros.

✓ **Tripsina:** Es una endoproteasa secretada en su forma precursora, el tripsinógeno y activada por la acción de la enteroquinasa. La tripsina cataliza la hidrólisis de aquellos enlaces peptídicos en que la



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

función carbonilo es aportada por el resto de lisina o de arginina, con independencia de la longitud o la secuencia de aminoácidos en la cadena (Evans y Claiborne, 2005; Muhlia et al., 2008; Lazo et al., 2011; Hani et al., 2018). Asimismo, Bezerra et al. (2005) y Santos et al. (2016) reportan la presencia de esta proteasa alcalina en el intestino de Tilapia *O. mossambicus*. Por otra parte, varios autores destacan que esta enzima ha sido catalogada como un indicador de la capacidad digestiva, puesto que se encuentra directamente relacionada con el metabolismo de proteínas y tiene la capacidad de activar otras proteasas como la quimotripsina y la catepsina (Bolasina et al., 2006; Carnevali et al., 2001; Sveinsdóttir et al., 2006).

✓ Quimotripsina: Es una endoproteasa activada por la acción de la tripsina sobre el quimiotripsinógeno. Esta enzima hidroliza los enlaces peptídicos que contienen grupos carboxilo de los aminoácidos aromáticos fenilalanina, triptófano y tirosina y de grandes residuos hidrofóbicos como la metionina (Muhlia et al., 2008).

✓ Elastasa: Es otra endopeptidasa, que se secreta en forma de proelastasa (zimógeno), es activada por la tripsina originando la elastasa que actúa específicamente sobre las cadenas laterales más pequeñas sin carga de los aminoácidos alifáticos (pH óptimo superior a 9). Es una enzima que no está presente en todas las especies de peces debido a que actúa sobre la elastina, proteína fibrosa de las arterias y ligamentos que es resistente a otras proteasas. También es capaz de hidrolizar insulina, ribonucleasas y algunas proteínas de origen microbiano (Lazo et al., 2000; Zamora y Rubio, 2009).

✓ Colagenasa: Hidroliza las proteínas fibrosas del tejido conectivo (colágeno) presente mayoritariamente en la piel, tendones y huesos, por lo tanto, es una enzima ausente en las especies herbívoras y presente en las carnívoras (Lazo et al., 2000; Zamora y Rubio, 2009).



✓ Carboxipeptidasas: Son exopeptidasas secretadas como procarboxipeptidasas que son activadas por la tripsina. Catalizan la hidrólisis de enlaces carboxilo terminales de los oligopéptidos que han sido generados por las endopeptidasas (tripsina y quimotripsina) en el lumen intestinal para producir péptidos de pequeño tamaño y aminoácidos libres que posteriormente serán absorbidos a través del borde de cepillo de los enterocitos (Kvále et al., 2007). Estas enzimas actúan a través de 2 formas: la carboxipeptidasa A, hidroliza prácticamente todos los enlaces péptidicos con grupo carboxilo terminal, producidos por la acción de la quimiotripsina; por su parte la carboxipeptidasa B, separa sólo los restos carboxilo terminales de arginina o de lisina, producidos por la acción de la tripsina (Lazo et al., 2000; Zamora y Rubio, 2009; Hani et al., 2018).

❖ **Lipasas**

Del mismo modo que en los mamíferos, en los peces, los lípidos son hidrolizados por las lipasas liberando diglicéridos, monoglicéridos, glicerol y ácidos grasos asimilables por el organismo; estos últimos son transportados al hígado, luego de ser absorbidos por las células de la pared del intestino anterior y resintetizados en triacilglicéridos intracelularmente (Izquierdo et al., 2000; Lazo et al., 2000).

✓ Lipasa pancreática: Es una glicerol-éster-hidrolasa. Esta enzima es secretada en su forma activa y precisa de la existencia de otra molécula, la colipasa, para realizar su acción hidrolítica (Sánchez, 2009; Hani et al., 2018). De forma tal, que las lipasas precisan que los lípidos se encuentren en una interfase lípido-agua para poder ejercer su acción, condición que es propiciada por las sales biliares, incrementando su superficie por la disminución de la tensión superficial; de esta forma, se favorece la unión a los lípidos de la colipasa en el sitio específico de unión para la lipasa, la cual se une hidrolizando los enlaces glicerol-éster de las posiciones del carbono (C) 1 y 3 y da lugar a dos moléculas de ácidos



grasos y una molécula de β -monoglicérido (Sánchez, 2009; Zamora y Rubio, 2009).

✓ Lipasa no específica: Es una hidrolasa activada por las sales biliares para realizar la digestión de lípidos neutros, catalizando la hidrólisis de las uniones éster-carboxilo y liberando los ácidos grasos no separados por la lipasa pancreática (C2 del triglicérido) y, en comparación con esta última, la lipasa no específica puede hidrolizar más eficazmente las ceras (Izquierdo et al., 2000; Lazo et al., 2000).

✓ Esterasas: Son lipasas capaces de hidrolizar triacilgliceridos y monoésteres de colesterol, liberando ácidos grasos (Izquierdo et al., 2000; Lazo et al., 2000).

❖ **Carbohidrasas**

Las carbohidrasas pancreáticas en conjunto con las carbohidrasas de las células intestinales actúan sobre los carbohidratos (celulosa, glucógeno y almidón) degradándolos en monosacáridos fácilmente absorbidos por la pared intestinal de los peces así como en el resto de los vertebrados (Blanco, 2006; Hani et al., 2018). Dentro de este grupo se encuentran:

✓ Amilasa: Es una enzima pancreática que cataliza la hidrólisis del enlace α 1-4 del almidón y glucógeno dando como resultado oligosacáridos (α -amilasa) y maltosa (β -amilasa) que luego son degradados por las glucosidasas (García y Sanz, 2009; Hani et al., 2018). Además, la actividad de la amilasa disminuye con la edad, en especies carnívoras, mientras que aumenta en peces herbívoros y omnívoros (Hani et al., 2018).

✓ Quitinasa: Esta enzima realiza la degradación de la quitina, aunque aún no está claro si son secretadas tanto de forma endógena como exógena por la simbiosis con la microflora intestinal presente (secretan exoenzimas) (Evans y Claiborne, 2005; García y Sanz,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

2009; Clements et al., 2009; Cornejo, 2017;). Sánchez (2009), reportó la actividad de quitinasas gástricas (pH 2-3) en la trucha común (*Salmo trutta*). En otro aspecto, la quitina que es un homopolímero insoluble y componente estructural del exoesqueleto de artrópodos, insectos y otros invertebrados, está formada por amino azúcares unidos entre sí por enlaces glucosídicos β -(1→4) que forman una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa. Las quitinasas son capaces de hidrolizar el enlace glucosídico β -1,4 degradando la quitina en sus componentes oligo y monoméricos (Sánchez, 2009; Castro et al., 2011).

✓ Celulasas: Estas enzimas son capaces de hidrolizar la celulosa, aunque aún no está claro si estas enzimas son de procedencia tanto endógena como secretadas por la simbiosis con la microflora intestinal presente (secretan exoenzimas) (Evans y Claiborne, 2005; Clements et al., 2009; García y Sanz, 2009; Cornejo, 2017). En este sentido, varios investigadores reportan la existencia de actividad celulasa en el hepatopáncreas y en el intestino de la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), relacionado positivamente con el nivel de celulosa en dieta (García y Sanz, 2009). La hidrólisis de la celulosa es llevada a cabo por tres enzimas: Primeramente la endo β -1,4 glucanasa hidroliza aleatoriamente los enlaces β -1,4 glucosídico intramoleculares accesibles de cadenas de celulosa para producir oligosacáridos. Luego, la exo β -1,4 celobiohidrolasa cliva los extremos no reductores del sustrato, produciendo unidades de celobiosa o glucosa y por último la β -1,4 glucosidasa, completa el proceso hidrolítico removiendo glucosa desde los extremos no reductores de pequeños celoligosacárido (Chaparro y Rosas, 2006; Zhang, et al., 2006). Finalmente la glucosa libre puede ser absorbida por la pared intestinal.

✓ Las glucosidasas: Hidrolizan los enlaces a 1,6 y a 1,4 de los disacáridos como sacarosa, fructuosa, maltosa y lactosa liberando glucosa (Evans y Claiborne, 2005).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3.1.3.1.3 Mecanismos de absorción de macromoléculas.

3.1.3.1.3.1 Carbohidratos.

Es importante destacar que numerosos trabajos han puesto de manifiesto que la capacidad de los peces para usar carbohidratos en la dieta varía mucho entre y dentro de las especies en relación con sus hábitos de alimentación. En este contexto, se conoce que los peces teleósteos, de forma general, son intolerantes a la glucosa (Moon, 2001; Hemre et al., 2002; Aguilar, 2011; Kamalam et al., 2012; Conde-Sieira, 2012). De manera similar a lo observado en mamíferos, los peces teleósteos carnívoros (Blasco et al., 2001; Polakof et al., 2010) y omnívoros como la tilapia genéticamente mejorada (GIFT) emplean diferentes mecanismos reguladores de la homeostasis de la glucosa en el intestino anterior, siendo este último el tejido de mayor captación de glucosa en comparación a cualquier otro tejido, excepto el cerebro (Yong et al., 2017).

En este sentido, cabe mencionar que el incremento en los niveles de glucosa induce la expresión de la proteína transportadora Sodio (Na^+)/glucosa (SGLT-1) presente en el borde de la membrana de los enterocitos para realizar el transporte intestinal de glucosa, que es captada en la luz intestinal en contra del gradiente de concentración (Marty et al., 2007; García y Sanz, 2009; Polakof et al., 2010; Polakof et al., 2011a; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017; Yong et al., 2017).

Por consiguiente, para captar la glucosa, la proteína transportadora debe activarse utilizando para ello el Na^+ , el cual tiende a entrar en el citosol gracias a la baja concentración de sodio que hay en el enterocito por efecto del sistema de transporte activo primario (la bomba ATP-asa



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

de Na^+/K^+), localizado en la membrana plasmática basal y lateral, que bombea tres iones sodio fuera de la célula contra un gradiente de concentración y permite la entrada de dos iones de potasio (K^+) al interior de la célula (García y Sanz, 2009; Polakof et al., 2010; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017; Yong et al., 2017). De este modo, las concentraciones de Na^+ tienden a restablecerse al regresar el Na^+ por la membrana plasmática apical en favor del gradiente de concentración. En consecuencia, una vez que el Na^+ se une a la proteína, cambia su conformación, seguido aparece un centro activo al que se une la glucosa; por lo tanto, al unirse la proteína transportadora con el sodio y la glucosa, sufre otro cambio conformacional que transporta el sodio y la glucosa al interior celular, en contra del gradiente de concentración, liberando finalmente la glucosa (García y Sanz, 2009; González et al., 2009; Conde-Sieira y Soengas, 2017).

En este contexto, el cotransportador de Na^+ /glucosa, mueve dos iones Na^+ y una molécula de glucosa con cada ciclo; y finalmente, cuando las concentraciones de glucosa intracelulares del enterocito son mayores que las del espacio intersticial, pasa a éste mediante el mecanismo de difusión facilitada por los transportadores GLUT2 de la membrana basolateral a la sangre (Drai et al., 1990; García y Sanz, 2009; Polakof et al., 2010; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017; Yong et al., 2017) (Figura 4).

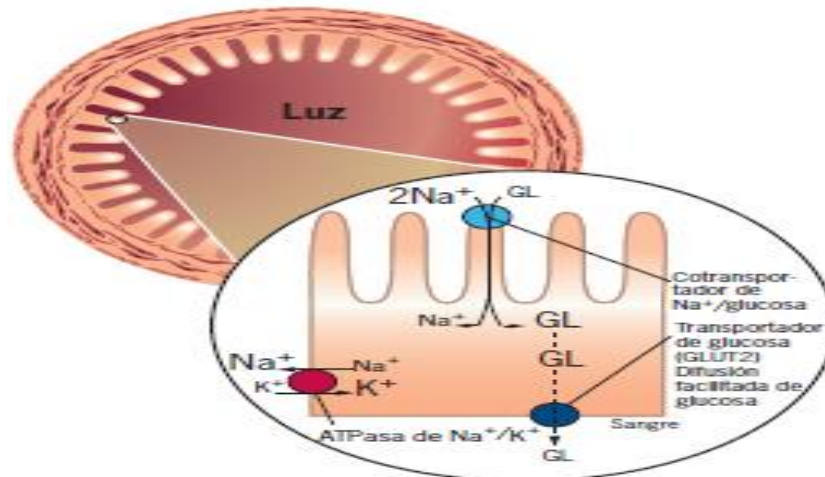


Figura 4. Transporte intestinal de glucosa se da a través de la proteína transportadora Sodio (Na^+)/glucosa. El tamaño relativo de las letras indica las direcciones de los gradientes de concentración respectivos. Tomada de Karp (2009).

3.1.3.1.3.1 Lípidos.

Al igual que en mamíferos, en peces, la hidrólisis de los lípidos producen monoglicéridos, ácidos grasos y glicerol (Zamora y Rubio, 2009). Los ácidos grasos de cadena larga forman micelas dentro de las cuales son transportados hasta el ribete en cepillo de la membrana apical de los enterocitos (Izquierdo et al., 2002). Una vez dentro de la célula, específicamente, en el retículo endoplasmático liso estos son reconstruidos en triglicéridos, seguidamente junto con una pequeña cantidad de fosfolípidos y colesterol son capturados en pequeñas gotitas llamadas quilomicrones (vacuolas formadas en el aparato de Golgi). Finalmente, son expulsados por exocitosis al fusionarse estas vesículas con la membrana basolateral, de esta célula absortiva, hacia los conductos linfático y torrente sanguíneo. Asimismo, los ácidos grasos de cadena corta y media se absorben directamente sin presencia de sales biliares y son expulsados como ácidos grasos libres hacia la vena porta hepática (Zamora y Rubio, 2009; Murray et al., 2010) (Figura 5).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

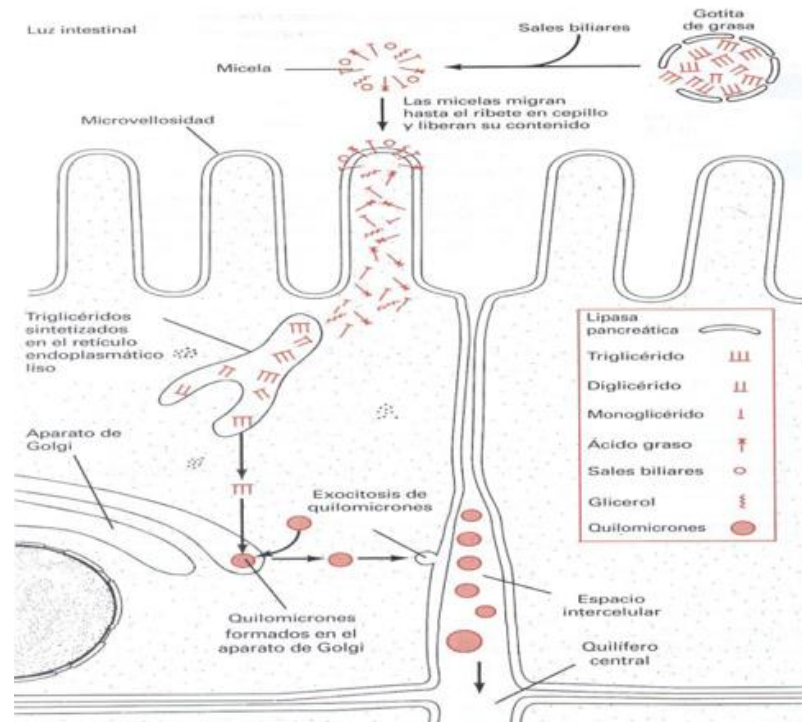


Figura 5. Absorción intestinal de ácidos grasos de cadena larga. Tomada de Randall et al. (2002).

3.1.3.1.3.3 Proteínas.

En mamíferos, al final de la digestión de las proteínas por la acción de endopéptidasas y exopéptidasas se produce una mezcla de aminoácidos libres, dipéptidos y tripéptidos, y oligopéptidos, los cuales son absorbidos en los enterocitos (Murray et al., 2010), de un modo similar al de los monosacáridos a través de la mucosa intestinal por medio de transporte activo dependiente de sodio. Asimismo, en los peces como en el resto de vertebrados se ha encontrado evidencia de varios transportadores de aminoácidos, según la naturaleza de la cadena lateral (grande o pequeña, neutra, ácida o básica) (Ronnestand et al., 2007); asimismo, los dipéptidos y tripéptidos entran en el borde de cepillo de las células de la mucosa intestinal, donde se hidrolizan en aminoácidos libres, seguido se transportan hacia la vena porta hepática (Izquierdo et al., 2002; Ronnestand et al., 2007; Lazo et al., 2011); por otro lado, los



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

péptidos de gran tamaño pueden absorberse intactos, sea mediante captación por endocitosis compleja o a través de pinocitosis (Izquierdo et al., 2002; Ronnestand et al., 2007; Lazo et al., 2011) (Figura 6)

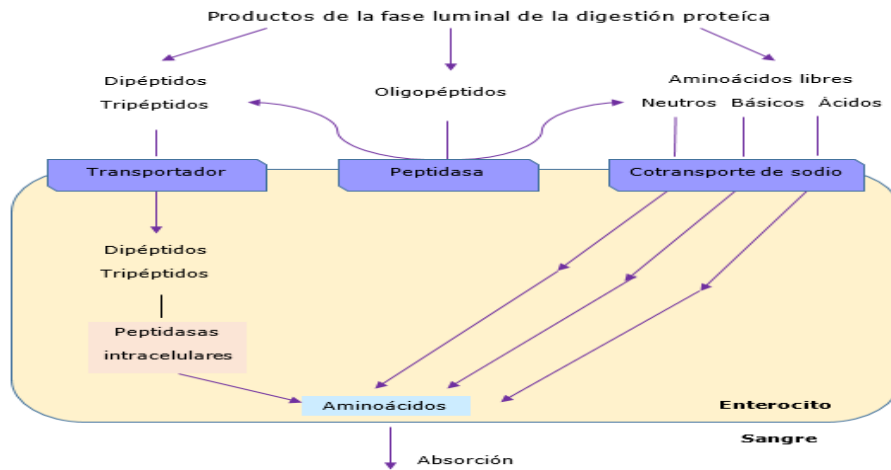


Figura 6. Absorción intestinal de Proteínas. Modificada de Herdt (2009).

3.2 Metabolismo energético en peces teleósteos

3.2.1 Metabolismo de carbohidratos.

3.2.1.1 Importancia de la glucosa.

El metabolismo de los peces varía en dependencia del hábito alimenticio de cada especie y a su adaptación a los cambios en el contenido de carbohidratos en la dieta (Polakof, 2008a; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Además, en los peces, la glucosa puede ser suministrada en la dieta o sintetizada a partir de sustratos diferentes a los carbohidratos (Gluconeogénesis) y almacenada en forma de glucógeno en cerebro, hígado, branquias y músculo rojo, principalmente (Hemre et al., 2002; Polakof, 2008a; Kamalam et al., 2012, Chang et al., 2007).

En otro aspecto, tanto en mamíferos como en los peces, el hígado desempeña una función importante como el principal órgano de reserva



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

de glucosa, y el encargado de distribuirla al resto de los órganos (Mommsen y Plisetskaya, 1991; Müller, 2008; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Mientras que en el músculo, las reservas energéticas son usadas *in situ* (Mommsen y Plisetskaya, 1991). Asimismo, la glucosa es el principal sustrato energético en el sistema nervioso central, (Soengas y Aldegunde, 2002), branquias (Polakof et al., 2006/2007d), gónadas (Tintos et al., 2006), eritrocitos (Soengas y Moon, 1995) y enterocitos (Soengas y Moon, 1998a).

Por otro lado, en peces, la glucosa desempeña una función reguladora de la secreción de hormonas que ejercen un efecto sobre los sistemas nervioso central y periférico (Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Es más, en los peces, los niveles de glucosa fluctúan en respuesta a cambios medioambientales y por la dependencia de diferentes tejidos que obtienen su energía metabólica casi exclusivamente de la glucosa para su funcionamiento, incluido el cerebro (Soengas y Aldegunde, 2002; Polakof, 2008a; Aguilar, 2011; Conde-Sieira, 2012). En este sentido, varios estudios en peces denotan la probable presencia de sistemas glucosensores (responden a cambios en la glucemia) en distintas partes del cuerpo que monitorizan continuamente las variaciones de glucosa en la sangre, produciendo secreciones hormonales o activando el sistema nervioso autónomo para controlar la captación, utilización o producción de glucosa, así como para controlar el gasto energético y la ingesta de alimento, manteniendo así la homeostasis dentro del animal (Marty et al., 2007; Polakof, 2008a; Aguilar, 2011; Polakof et al., 2011a; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017).



3.2.1.2 ¿Por qué los peces teleósteos se consideran intolerantes a la glucosa?

La intolerancia a la glucosa en los peces teleósteos es debido a que estos, en general, son incapaces de disminuir rápidamente los niveles de glucosa circundantes después de una carga de glucosa o tras la ingesta de alimento con altos niveles de carbohidratos (Moon, 2001). Por lo tanto, la hiperglucemia permanece mucho más tiempo y en mayor concentración en peces que en mamíferos (Moon, 2001; Polakof, 2008a).

De forma general, en los peces, el grado en que los carbohidratos son usados es dependiente de la especie y de su capacidad para metabolizarlos (Moon, 2001; Polakof, 2008a; Yong-Jun et al., 2017). Bajo este contexto, en los peces carnívoros se sintetiza glucosa y posteriormente el glucógeno mediante los precursores gluconeogénicos, que se obtienen de la dieta (Polakof, 2008b); asimismo, Panserat et al. (2000a) señalan que la falta de regulación del gen de la G6Pasa hepática, propicia una hiperglucemia persistente en las especies carnívoras, tal y como lo reportó Harmon et al. (1991) en la trucha arcoíris, en la que la hiperglucemia perduró hasta las 18 horas. No obstante, varios autores denotaron la activación de las hexoquinasas hepáticas (HK y GK) en especies de peces omnívoras y herbívoras como: la carpa (Shimeo et al., 1981) o la tilapia roja (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) (Lin y Shiau, 1995) en las que la hiperglucemia no perdura tanto como en las especies carnívoras. Estudios recientes en tilapia mejorada (GIFT) (*Oreochromis niloticus*) muestra incremento significativo de la concentración de glucosa plasmática hasta las 8 horas, volviendo a sus niveles basales a las 24 horas tras la ingesta (Yong-Jun et al., 2017). En oposición a estos resultados, otros investigadores reportan diferencias significativas de la concentración de glucosa plasmática tras tres horas posprandial, en *Oreochromis niloticus* (Castillo y Domínguez, 2018).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Por otro lado, se ha observado que la hiperglucemia se corresponde con la hiperinsulinemia, esta última podría estar destinada al crecimiento y al metabolismo de aminoácidos y no al control de la glucemia (Moon, 2001; Mommsen y Plietskaya, 1991). Además, la ausencia de transportadores funcionales de glucosa acompañada con una baja capacidad para fosforilar la glucosa en el hígado, es otra posible causa de la intolerancia a la glucosa en los peces (Moon, 2001; Panserat et al., 2000a; Yong-Jun et al., 2017). Lo anterior fue confirmado por Metón et al. (2003) al observar que la GK en el hígado de los peces presenta menor afinidad por la glucosa la observada en hígado de mamíferos. Otros estudios, en varias especies de teleósteos, ponen de manifiesto que la regulación de las HK y GK hepáticas se da por el estado nutricional del animal, siendo la presencia de los carbohidratos en la dieta lo que inducen la expresión y activación de la GK (Panserat et al., 2000a) entre las cuatro y ocho horas tras la ingesta de alimento, propiciando así la hiperglucemia persistente en estas especies de peces (Caseras et al., 2000; Enes et al., 2006).

3.2.1.3 Metabolismo de la glucosa

En el tejido animal, la glucosa es transportada por el torrente sanguíneo y se difunde a través de las membranas plasmáticas usando los transportadores facilitados específicos (GLUT) o a través de los SGLT-1 presentes en los tejidos de los diferentes sistemas de órganos; posteriormente es fosforilada a glucosa-6-fosfato (G6P) por las enzimas hexoquinasa que juegan un papel importante en el control de la homeostasis de glucosa (Panserat et al., 2000b), la cual puede seguir las siguientes rutas metabólicas:



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

1. almacenarse como reservorio energético, en forma de glucógeno
2. metabolizarse a través de la glucólisis o la ruta de las pentosas fosfato (Hall et al., 2006; Müller, 2008; Polakof, 2008a) (Figura 7).

En este contexto, numerosos trabajos han puesto de manifiesto, en peces, la existencia de glucosensores en el hígado que desempeñan un papel muy importante en la homeostasis glucídica del organismo, debido a que el hígado responde a los cambios en la concentración de glucosa de forma compleja pudiendo alternar entre su utilización (mediante la glucólisis y síntesis de glucógeno) o su producción (mediante la glucogenólisis y la gluconeogénesis) (Rojas, 2005; Polakof, 2008a; Conde-Sieira, 2012; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Asimismo, es importante tener en cuenta que en períodos posprandiales, el exceso de la glucosa proveniente de la dieta es almacenada en forma de glucógeno en el hígado o pasa a formar parte de los lípidos (Polakof, 2008a; Conde-Sieira, 2012).

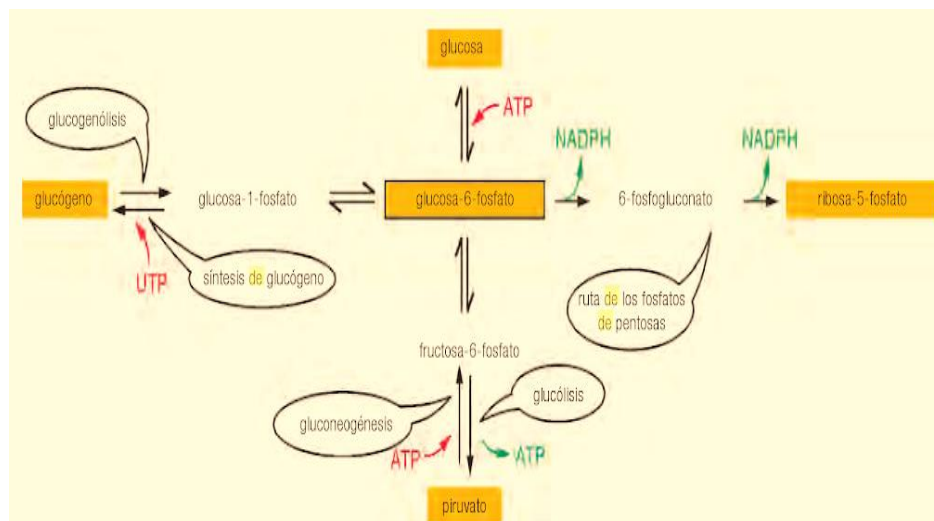


Figura 7. Vías metabólicas de la glucosa. Tomada de Müller. (2008).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3.2.1.3.1 Glucólisis.

En los peces, la glucólisis es la principal vía catabólica para la glucosa (Kaushik, 2001; Polakof, 2008a; García y Sanz, 2009; Bender, 2010). Varios estudios han reportado actividad de las enzimas glucolíticas en todos los tejidos de los peces, tales como: músculo rojo, músculo blanco, corazón, riñón, hígado y branquias (colocados de mayor a menor) (Polakof, 2008a). Además es importante recalcar, que el cerebro utiliza la glucosa como principal sustrato energético, la cual en condiciones aerobias se transforma en piruvato, produciendo adenosina 5´-trifosfato (ATP) y sustratos oxidables (acetil-CoA) en el ciclo de Krebs. Sin embargo, en condiciones anaerobias se forma lactato (como ocurre en el músculo blanco) en la trucha arcoíris (Polakof, 2008b; Conde-Sieira, 2012; Otero et al., 2015; Conde-Sieira y Soengas, 2017) (Figura 8.)



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).

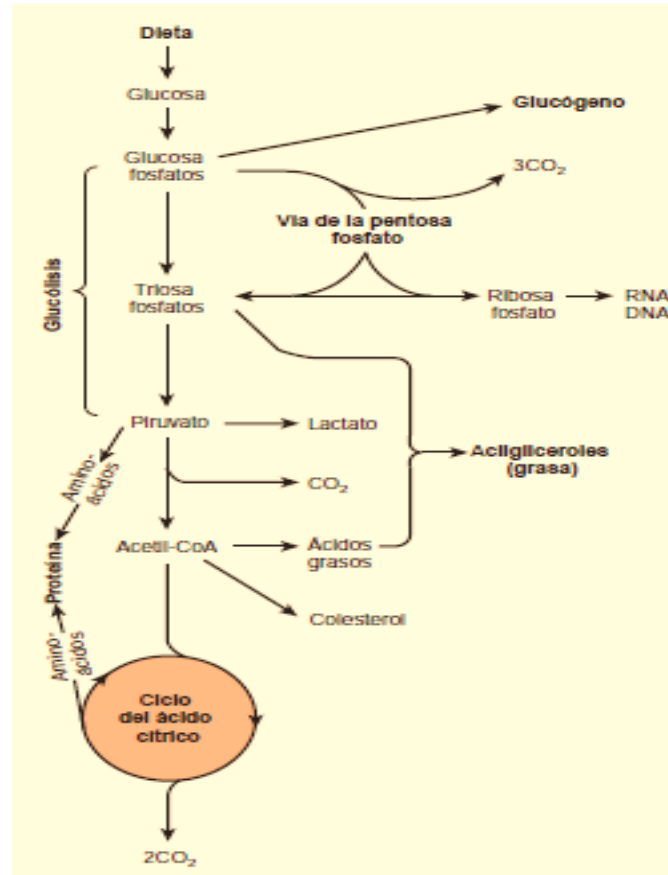


Figura 8. Principales rutas y productos terminales del metabolismo de glucosa. Tomada de Bender (2010).

3.2.1.3.2 Gluconeogénesis.

De forma similar a los mamíferos, en los peces, la gluconeogénesis se refiere al proceso de síntesis de glucosa a partir de precursores que no sean carbohidratos (García y Sanz, 2009). En los peces teleósteos el hígado es el principal órgano gluconeogénico (Moon y Foster, 1995), seguido de los tejidos renal e intestinal (Kirchner et al., 2005). Además, la expresión génica y la activación de las principales enzimas (FBPasa, PEPCCK, PC) de esta vía anabólica, es regulada por muchos factores génicos y hormonales (van de Werve et al., 2000) (Figura 9).



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

Principales sustratos usados en la gluconeogénesis:

✓ Lactato: se obtiene durante los procesos de glucólisis y glucogenólisis mediante la conversión del piruvato a lactato bajo condiciones anaeróbicas. En los teleósteos, esta conversión se da *in-situ* en las células musculares, análogo al ciclo de Cori en mamíferos (Weber, 1992).

✓ Aminoácidos: producidos a partir de la degradación de proteínas provenientes de la dieta o de proteínas musculares (Blasco et al., 1996).

✓ Glicerol: producido por la degradación de los triglicéridos (Sheridan, 1988).

En los peces, con preferencias alimenticias de altos contenidos de proteínas y bajos de carbohidratos, esta ruta es ampliamente usada y la actividad de las enzimas de dicha ruta pueden ser inhibidas por altos contenidos de carbohidratos en las dietas (Panserat et al., 2000b). Es más, Caseras y colaboradores (2002) observaron que durante la privación del alimento, esta ruta es activada para el mantenimiento de la glucemia. En cambio, durante una realimentación, se reportan elevados niveles de actividades de las enzimas gluconeogénicas, con la finalidad de restaurar las reservas hepáticas de glucógeno (Polakof, 2007b).

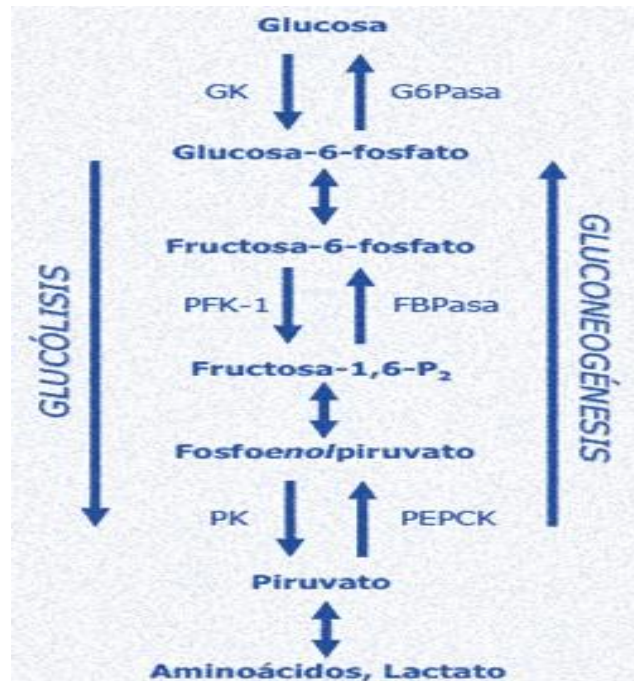


Figura 9. Rutas gluconeogénicas y glucolíticas. GK, glucoquinasa, G6Pasa, glucosa-6-fosfatasa; PFK-1, fosfofructo-1-quinasa; FBPasa, fructuosa-1,6-bifosfatasa; PK, piruvato quinasa; PEPCK, fosfoenolpiruvato carboxiquinasa. Modificado de Polakof (2008a)

3.2.1.4 Síntesis y movilización del glucógeno.

Al igual que en mamíferos, el hígado de los peces es el principal órgano almacenador de glucógeno (Figura 10). Durante situaciones de hipoglucemia libera glucosa al torrente sanguíneo para abastecer de este metabolito energético a los diferentes tejidos y órganos de los animales. Sin embargo, independientemente, que los tejidos como el cerebro, corazón, músculo entre otros, sean capaces de almacenar glucógeno, en situaciones de hipoglucemia, la glucosa liberada solamente puede ser usada *in situ* debido a la incapacidad de eliminar el grupo fosfato y dejar la glucosa libre (Bender, 2010).

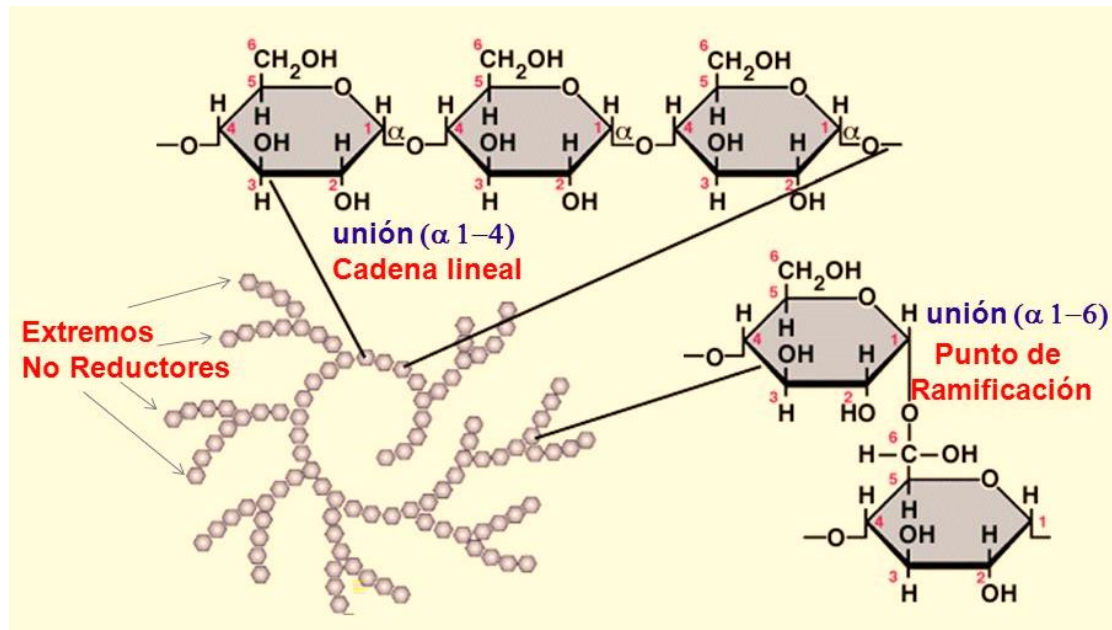


Figura 10. Estructura del Glucógeno. Modificado de Zaca (2016).

En este contexto, la síntesis de glucógeno o glucogenogénesis ocurre de la siguiente manera:

- la glucosa se fosforila hacia glucosa 6-fosfato, catalizado por la el complejo de hexosas HK/GK. La glucosa 6-fosfato se isomeriza hacia glucosa 1-fosfato, mediante la fosfoglucomutasa. La enzima en sí, esta fosforilada y el grupo fosfato participa en una reacción reversible en la cual la glucosa 1,6-bisfosfato es un intermediario.
- Posteriormente, la glucosa 1-fosfato reacciona con uridina trifosfato (UTP) para formar el nucleótido activo uridina difosfato glucosa (UDPGlc) y pirofosfato, catalizado por la UDPGlc pirofosforilasa (Müller, 2008; Bender, 2010).
- UDPGlc La pirofosfatasa cataliza la hidrolisis de pirofosfato hacia 2 fosfatos, y se elimina uno de los productos de la reacción (Müller, 2008; Bender, 2010).



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

▪ La glucógeno sintetasa cataliza la formación de un enlace glucósido entre el C-1 de la glucosa de UDPGlc y el C-4 de un residuo glucosa terminal de glucógeno, lo que libera uridina difosfato (UDP) alargando la cadena de glucógeno en un eslabón (Müller, 2008; Bender, 2010) (Figura 11).

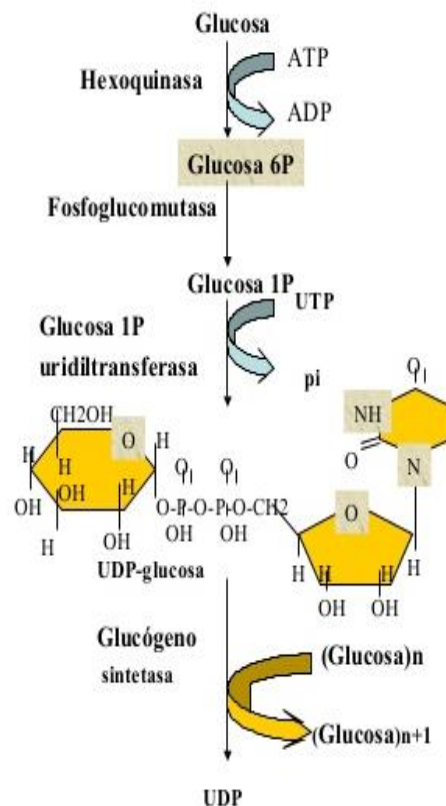


Figura 11. Síntesis de glucógeno. Tomada de Loayza (2016).

Por otro lado, en la degradación del glucógeno se requiere de la acción de las enzimas:

▪ Glucógeno fosforilasa (GPasa): Cataliza la fosforólisis del glucógeno (ruptura de enlaces alfa (1-4) por sustitución con un grupo fosfato) para producir glucosa-1-fosfato (Müller, 2008; Bender, 2010).

▪ Enzima desramificadora del glucógeno o amilo 1,6-glucosidasa: Esta enzima contiene dos sitios catalíticos asignados a una misma proteína, que cataliza dos reacciones sucesivas. Por lo tanto, en la primera actúa como una glucosiltransferasa que transfiere una cadena de tres



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

restos glucosil desde una de las cadenas acortadas al extremo de otra. Una de ellas tendrá un solo resto glucosil unido por un enlace alfa (1-6), mientras que la otra tendrá siete restos glucosil y, en consecuencia, podrá ser atacada de nuevo por la fosforilasa. Posteriormente, en la segunda reacción, la enzima desramificadora hidroliza el residuo que permanecía unido por el enlace alfa (1-6), produciendo glucosa libre Müller, 2008; Bender, 2010).

▪ Fosfoglucomutasa: Esta enzima es activa para la formación de glucosa-6-fosfato. Bajo ese contexto, la glucosa-1-fosfato es convertida en glucosa-6-fosfato (reacción de la gluconeogénesis en sentido inverso).

▪ Glucosa-6-fosfatasa (GSasa): Cataliza la última etapa de la hidrólisis de la glucosa-6-fosfato a glucosa y fosfato inorgánico (Müller, 2008; Bender, 2010) (Figura 12).

En otro aspecto, la función concreta del glucógeno depende de su localización. De este modo, la función del glucógeno hepático es almacenar glucosa y exportarla para mantener la glucosa sanguínea dentro de la normalidad o lo que se conoce como normoglucemia (Brown y Ransom, 2007). Además, en los peces la movilización local del glucógeno muscular provee el sustrato energético (glucosa) necesario para la natación (movimiento de ataque y huida) (Hemre et al., 2002).

Kaushik (2001), Polakof (2008a) y Aguilar (2011) mencionan que en los peces, el almacenamiento de la glucosa en forma de glucógeno, es similar a lo descrito en mamíferos, no obstante estos autores señalan que en los peces el glucógeno es un sustrato energético poco usado, siendo dependiente del tejido, la especie y el porcentaje de carbohidratos en la dieta. Es más Hemre et al. (2002) señalan que en el hígado es donde se acumula la mayor parte del glucógeno. En este mismo sentido, otros autores señalan que las concentraciones del glucógeno hepático pueden variar en algunas especies. Es más, se ha observado que bajas concentraciones de glucógeno en cerebro y en el músculo prevalecen



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

durante largos períodos de ayuno (Soengas et al., 1996). Situación debida a que la privación de la ingesta de alimento ocasiona una disminución de la actividad de la GSasa, mas no de la GPasa (Foser y Moon, 1991).

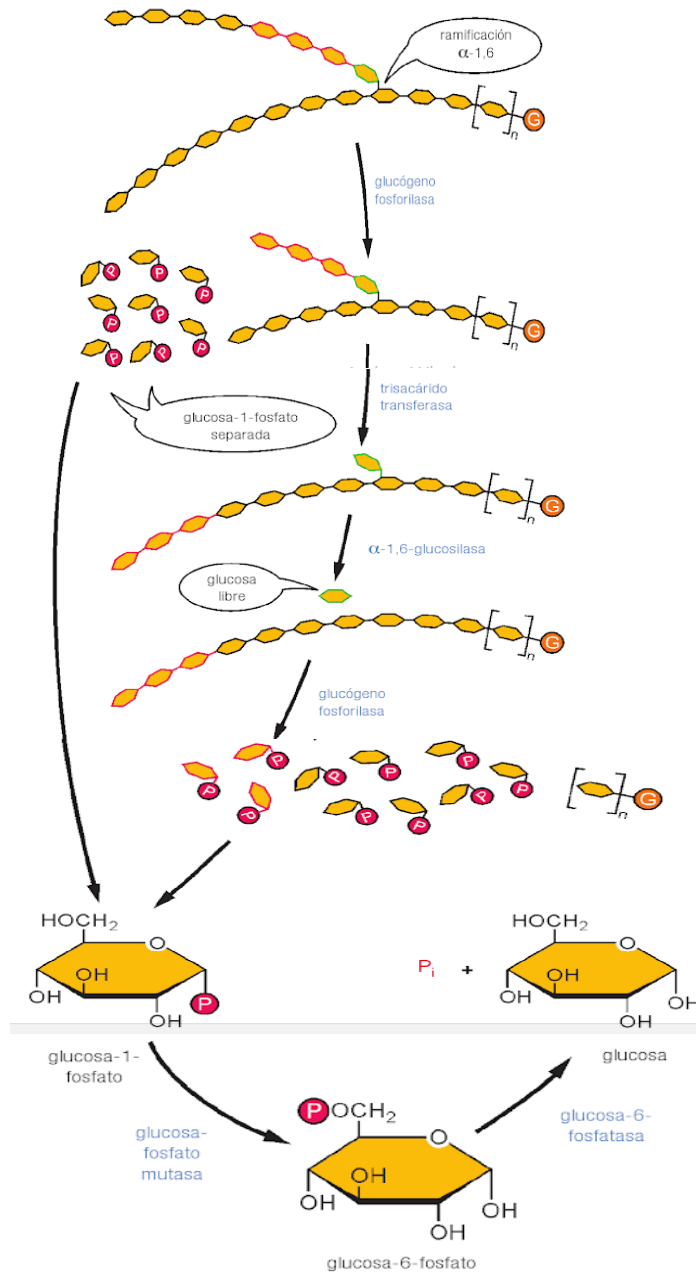


Figura 12. Degradación del glucógeno. Modificado de Müller (2008).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

En el cerebro de los peces, similar a lo que ocurre en mamíferos, el glucógeno tiene la función de abastecer las necesidades energéticas a nivel local (Pfeiffer-Guglielmi et al., 2003; Brown y Ransom, 2007). Una vez que la glucosa plasmática es transportada al parénquima cerebral a través del GLUT1 es captada por los astrocitos y células gliales a través de GLUT1 y GLUT3, respectivamente. Cuando incrementa la demanda energética, los astrocitos movilizan el glucógeno a glucosa, la cual será metabolizada a lactato vía glucólisis por acción de la lactato deshidrogenasa (LDH5) y será liberado al espacio extracelular a través de transportador de monocarboxilatos (MCT1), seguidamente se traslada por las neuronas a través del MCT2, donde es transformado a piruvato por acción de la LDH1, para ser integrado al Ciclo de Krebs (Pellerin y Magistretti, 2004; Miró, 2011) (Figura 13).

Por tanto, es posible que las reservas de carbohidratos en el cerebro le permitan a este tejido ser relativamente autónomo del aporte de glucosa sanguínea, especialmente durante alteraciones metabólicas de duración limitada.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a *Tilapia Roja* (*Oreochromis spp.*).

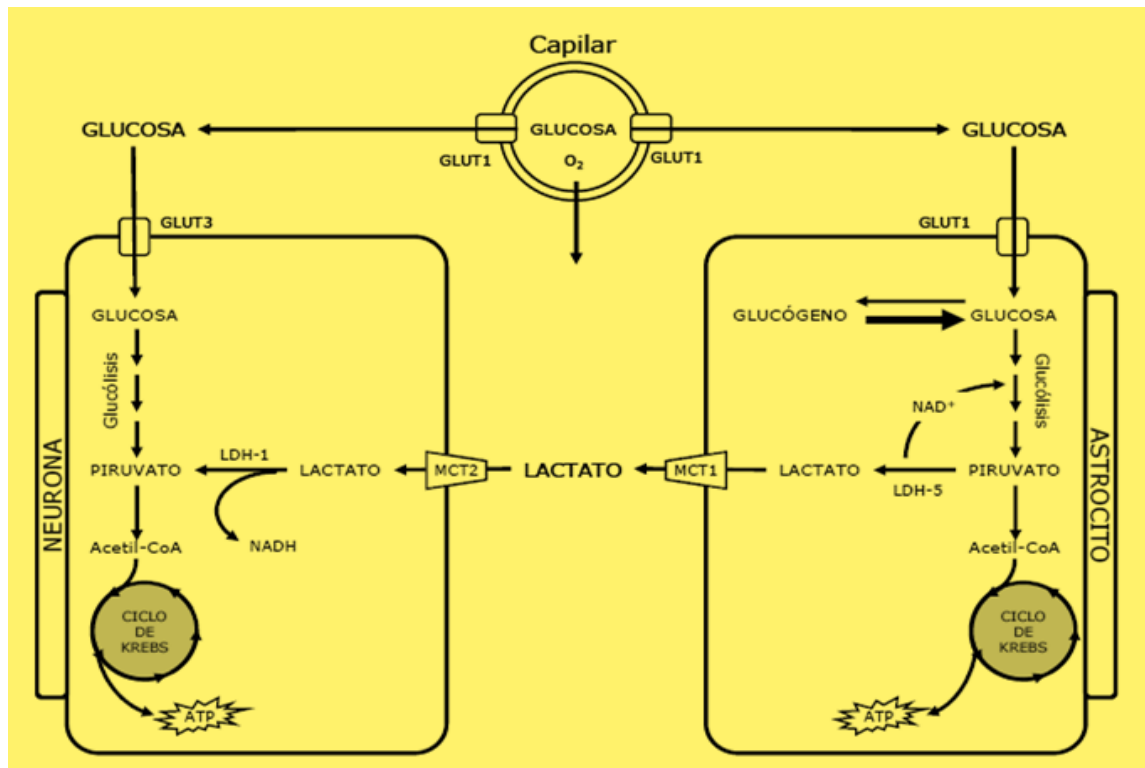


Figura 13. Interacción metabólica entre los astrocitos y las neuronas. Modificada de Polakof (2008a).

3.2.1.5 Control endocrino del metabolismo de glucosa

3.2.1.5.1 Insulina

En los peces, como en los mamíferos, la captación de glucosa hacia el músculo y el tejido adiposo está controlada por la insulina, debido al funcionamiento de los mecanismos glucosensores periféricos en las células β -pancreáticas, en respuesta a las variaciones en la glucemia (hiperglucemia) (Polakof y Soengas, 2008b; Thorens, 2011; Chan y Sherwin, 2012). En este contexto, la glucosa entra en la célula a través de transportadores GLUT2 y es fosforilada por la GK, que regula la producción del ATP citosólico. A continuación, el aumento de ATP provoca el cierre de los canales de potasio (K_{ATP}) de la membrana plasmática,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

causando la despolarización y permitiendo la entrada de Ca^{2+} . Lo cual promueve la liberación de insulina en las células β -pancreáticas (Polakof et al., 2011a) (Figura 14).

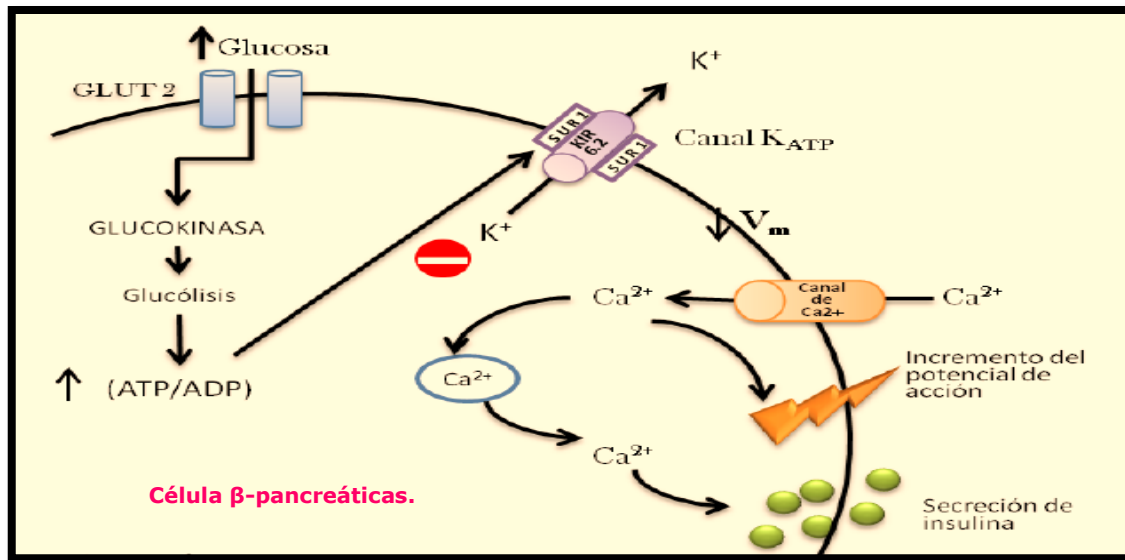


Figura 14. Mecanismo de glucosensibilidad en las células β -pancreáticas descrito en mamíferos. Modificado de Polakof et al. (2011a).

De forma general, tras la ingesta de alimento con alto contenido de carbohidratos los niveles circulantes de insulina se elevan y disminuyen bajo condiciones de ayuno (Schwartz et al., 2000; Blasco et al., 2001; Navarro et al., 2002; Capilla et al., 2003; Rojas, 2005; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Asimismo, la insulina también actúa como un factor anabólico y estimula la síntesis de glucógeno, la lipogénesis y la síntesis de proteínas (Rojas, 2005; Nelson y Sheridan, 2006; Polakof et al., 2011a; Conde-Sieira, 2012).

En los mamíferos así como en los peces, la captación de glucosa en el músculo y tejido adiposo, en respuesta a la insulina, se da a través de transportadores GLUT4, que son translocados desde las vesículas intracelulares hacia la membrana celular (Navarro et al., 2002; Polakof, 2006; Watson et al., 2004; Zorzano et al., 2005; Bender, 2010; Polakof



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

et al., 2011a). En otro aspecto, los transportadores sensibles a la insulina en el tejido adiposo son de baja afinidad, razón por la cual se puede explicar la baja capacidad de los peces para retirar la glucosa plasmática (Capilla et al., 2004).

3.2.1.5.2 Glucagón

En condiciones hipoglucémicas los mecanismos glucosensores periféricos de las células pancreáticas secretan glucagón (Conde-Sieira y Soengas, 2017), el cual estimula la producción de glucosa *in vitro* e *in vivo* y su aumento en plasma (Thorens, 2011; Chan y Sherwin, 2012). Esto es llevado a cabo mediante la estimulación de las vías glucogenolíticas-gluconeogénicas a partir de precursores como el piruvato, lactato, glicerol y aminoácidos (Plisetskaya y Mommsen, 1996; Rojas, 2005; Conde-Sieira y Soengas, 2017) mediante la activación de enzimas reguladoras del metabolismo tales como la piruvato quinasa (PK), GSasa, triacilglicerol lipasa (TAG-lipasa) y FBPasa (Rojas, 2005). En los peces, a diferencia de los mamíferos, la interacción entre la insulina y glucagón presenta una dependencia de la especie en estudio (Plisetskaya y Mommsen, 1996; Rojas, 2005). En otro aspecto, el estatus nutricional del animal es uno de los factores principales que regula las respuestas fisiológicas del glucagón. En este sentido, la exposición a cortos períodos de ayuno estimula el aumento de los niveles de glucagón, activando la degradación de las reservas ante la falta de nutrientes proveniente de la dieta (Rojas, 2005; Conde-Sieira y Soengas, 2017). Por consiguiente, similar a lo que ocurre en mamíferos, en los peces tras la ingesta de alimento se produce un incremento en las concentraciones de glucagón estimulados por el sistema nervioso y no por la absorción de los nutrientes (Navarro et al., 2002). Sin embargo, otros estudios evidencian que en los peces carnívoros, la disminución en los niveles de glucagón se



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

corresponde con los incrementos de la glucemia proveniente de la dieta (Novoa et al., 2004).

3.2.1.6 Ayuno y realimentación

De forma general, los peces, durante el ayuno inicialmente recurren a movilizar las reservas de lípidos y glucógeno hepático, posteriormente estos activan la gluconeogénesis hepática y reducen la utilización de glucosa (Navarro y Gutiérrez, 1995). Por lo tanto, en varias especies de peces durante el ayuno prolongado se producen cambios en las actividades enzimáticas que participan del metabolismo intermediario hepático (Mentón et al., 1999), estos cambios pueden ser: aumento del potencial glucogenolítico y gluconeogénico, descenso en la capacidad de fosforilar glucosa (Polakof et al., 2006/2007b) para luego exportarla (Metón et al., 2004; Polakof et al., 2007b). Sin embargo, en varias especies, inicialmente no es el glucógeno el principal combustible utilizado durante un período de ayuno prolongado sino que son las proteínas y lípidos (Cowey y Walton, 1989). En cambio, en los peces sometidos a ayuno prolongado y posteriormente realimentados, el glucógeno es recuperado gradualmente a partir de compuestos de tres carbonos, entre 3 y 8 días, prevaleciendo la gluconeogénesis sobre la glucólisis (Polakof et al. 2007b). En otro aspecto, en varios estudios se observó un aumento en el potencial glucolítico, el uso de la glucosa exógena y el descenso de la vía de las pentosas fosfato a nivel cerebral (Figueroa et al., 2000; Sangiao-Alvarellos et al., 2005a; Polakof et al., 2007c). Además, a nivel muscular se observó el descenso de los niveles de glucógeno (Polakof et al., 2007c) así como el aumento del potencial glucolítico (Martínez et al., 2003; Polakof et al., 2007b).



3.3 Estrés en peces

El estrés se puede definir según Selye (1950), como cualquier situación que somete al organismo a perturbaciones que amenazan su estado de equilibrio fisiológico o lo que se conoce como homeostasis (Mommsen et al., 1999; Colombe et al., 2000; Aziza, y Khaldi, 2010). De este modo, la vida de un pez está llena de superación, enfrentamiento y recuperación de retos desafiantes para lograr mantener su homeostasis ante las variaciones provenientes del medio interno del organismo y su medio externo (Mommsen et al., 1999; Schreck, 2000; Engelsma et al., 2002). Por lo tanto, la respuesta fisiológica de los peces a las situaciones amenazantes, provoca un estímulo que actúa sobre los sistemas biológicos, generando una respuesta (Flores, 2002; Schreck et al., 2001). Es por ello, que la forma en que los peces responden a los diferentes factores estresantes es fundamental para la supervivencia individual y la capacidad reproductiva de la población (Chrousos, 1998; Barandica y Tort, 2008). Bajo ese contexto, en los peces, al igual que en los mamíferos, se ha visto una íntima comunicación entre los sistemas nervioso, endocrino e inmune. Siendo dicha interrelación, fundamental para hacer frente de manera coordinada y eficaz a las situaciones de estrés (Tort et al., 1998; Mommsen et al., 1999; Flores, 2002; Engelsma et al., 2002; Flik et al., 2006).

La respuesta al estrés se incluye dentro de lo que Selye (1950) considera síndrome de adaptación general (SAG), definido como el conjunto de cambios en los tres sistemas orgánicos que ocurren cuando los organismos intentan establecer o mantener la homeostasis. De esta forma, el estrés puede afectar a todos los procesos fisiológicos tales como el rendimiento del organismo, la tasa de crecimiento, los índices de fertilidad y, más aún, la incidencia y frecuencia de enfermedades;



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

asimismo, dichas afectaciones están determinadas por la respuesta de los organismos al SAG (Wanderlaar-Bonga, 1997; Wedemeyer et al., 1998; Barton, 2002; Barandica y Tort, 2008; Schreck, 2000). En el proceso operan tres fases (Figura 15) definidas por Selye (1950):

✓ La 1 fase o de alarma: se define como el intento de huida por parte del animal. Generando así, una respuesta a nivel neuroendocrino donde se induce la liberación de catecolaminas (CAs) (adrenalina y noradrenalina) y cortisol al torrente sanguíneo. Por lo tanto, se inicia la actividad motora con el aumento del ritmo cardiaco y el flujo sanguíneo hacia los órganos más activos tales como: cerebro, corazón, branquias y músculo esquelético, para poder realizar la posible huida.

✓ La 2 fase o de resistencia: ocurre cuando el animal trata de adaptarse ante el estrés constante, ocasionando disminución de los niveles de CAs y liberación de cortisol a nivel sanguíneo y tisular.

✓ La 3 fase o de agotamiento: se da cuando el estrés persiste en el tiempo aumentando tanto los niveles de cortisol como el metabolismo, interfiriendo de esta forma en los procesos fisiológicos, lo cual puede ocasionar la muerte del animal (Barandica y Tort, 2008).

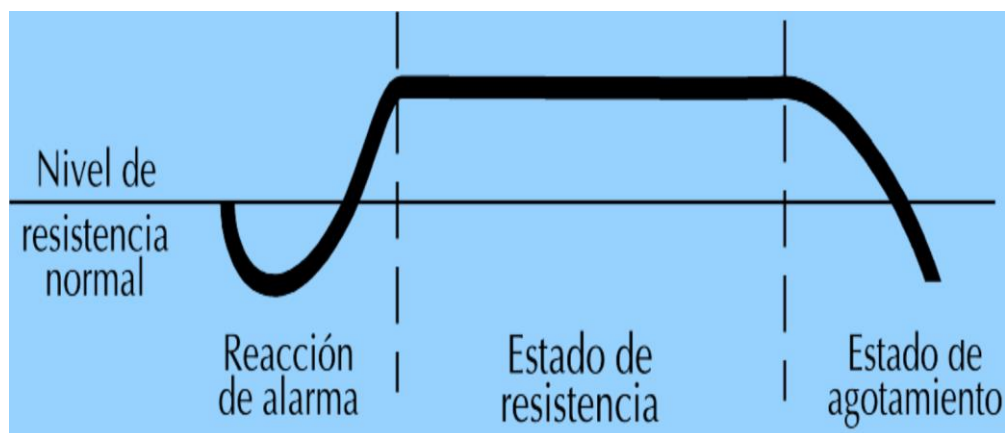


Figura 15. Fases del Síndrome General de adaptación. Tomado de Rodríguez



3.3.1 Agentes estresantes

Cada respuesta ante el estrés es de diferente duración dependiendo de los agentes estresantes y del propio organismo (Chrousos, 1998). Además, el estrés dependiendo de su duración e intensidad, se puede clasificar en:

- ✓ Estrés agudo: agente estresante de duración corta pero intensa.
- ✓ Estrés crónico: agente estresante de intensidad media-baja, pero persistente en el tiempo (Chrousos, 1998).

El estrés en acuicultura resulta de las variables físicas, químicas y biológicas, en la calidad del agua y las practicas gerenciales de rutina en el cultivo tales como densidad de siembra, manipulación, clasificación y transporte (Barton, 2002; Aziza y Khaldi, 2010). Asimismo, el estrés puede incrementar la susceptibilidad a enfermedades (Pickering y pottinger, 1987) afectando el crecimiento y la reproducción de los peces (Pankhurst y Van der Kraak, 1997). Domínguez et al. (2004) ponen en evidencia el efecto estresante de la temperatura y la salinidad sobre los niveles de inmunoglobulina M (IgM) debido a que variaciones en estos parámetros incrementan la concentración de este anticuerpo. Este efecto podría relacionarse con el bajo porcentaje de sobrevivencia y el pobre crecimiento de *O. niloticus* cultivada en aguas con concentraciones salinas mayores de 10 ppt (Abu et al., 2005). Por otro lado, existen evidencias de alteraciones en el metabolismo del glucógeno en tejidos periféricos de *O. niloticus* cuando en el ambiente de cultivo hay presencia de contaminantes químicos como el Cadmio (Lin et al., 2011), denotando un efecto de estrés químico. Asimismo, se ha observado en trucha arcoíris que tras el estrés aumentan los niveles de cortisol en plasma disminuyendo los niveles de glucógeno en las agallas e hígado (Conde-Sieira et al., 2010), con el incremento de la actividad y expresión de



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Glucógeno fosforilasa (GP). Otros estudios en *O. niloticus* han mostrado incremento de la actividad y de los niveles de ARNm de GP cuando los peces son transferidos de agua dulce a agua salada. Estos hallazgos reflejan que incrementos en la salinidad provocan estrés y una probable activación del sistema glucosensor (Tseng et al., 2007). Por otro lado, la eficiencia alimentaria es otro factor de importancia a evaluar, debido a que un manejo equivocado en el suministro y calidad del alimento incrementa los niveles de cortisol, provocando estrés en *O. niloticus* (Martins et al., 2011). La falta de conocimiento del tiempo de retorno a la línea base de los niveles de metabolitos en plasma repercute en frecuencias erróneas de tiempos de alimentación en los peces. Por consiguiente, tras la ingesta de alimento incrementan los niveles glucémicos en *Onchorynchus mikiss* (Polakof et al., 2008a; Polakof et al., 2007c, d). Seguido, se da la activación del sistema glucosensor cerebral que promueve la expresión de neuropéptidos implicados en la regulación de la ingesta de alimento (Conde-Sieira et al., 2010) y la liberación de hormonas como la leptina que promueve el gasto energético (Aguilar et al., 2010a y b).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3.3.2 Estrés y la activación de los sistemas neuroendocrinos de respuestas.

3.3.2.1 Ejes de respuestas.

Los estímulos que generan los diferentes agentes estresantes son primero percibidos por los sensores del sistema nervioso central (SNC), el cual tiene la capacidad de recibir al mismo, clasificarlo y organizar una respuesta (Flores, 2002), mediante la activación del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) en mamíferos. No obstante, en los peces este eje se denomina eje Hipotálamo-Pituitario-Interrenal (HPI) debido a que los peces no poseen una glándula adrenal como tal, sino un conjunto difuso de células interrenales (Weyts et al., 1999; Flik et al., 2006). Por otra parte, las células interrenales se diferencian en dos tipos: el tejido cromafin productor y liberador de CAs (adrenalina (A) y noradrenalina (NA)) y el tejido esteroideogénico encargado de producir y liberar esteroides adrenales (en teleósteos, principalmente el cortisol) en respuesta al estrés (Figura 16) (Wendelaar Bonga, 1997).

Bajo ese contexto, en peces la primera fase que se desarrolla en respuesta al estrés, es la activación del eje fisiológico Hipotálamo-Simpático-Cromafin (HPC), el cual desencadena la liberación de catecolaminas (A y NA) al torrente sanguíneo, siendo estimulado principalmente por fibras colinérgicas pre-ganglionares del sistema nervioso simpático (Bentley, 2002).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Asimismo, poco tiempo después se da la activación del eje HPI encargado de desarrollar una acción coordinada para controlar la síntesis y secreción de corticoides por el tejido interrenal, iniciando esta acción la hormona o factor liberador de corticotropina (CRH o CRF) el cual es liberado por neuronas hipotalámicas de la región pre-óptica, en respuesta a un agente estresante (Mommsen et al., 1999; Flik et al., 2006).

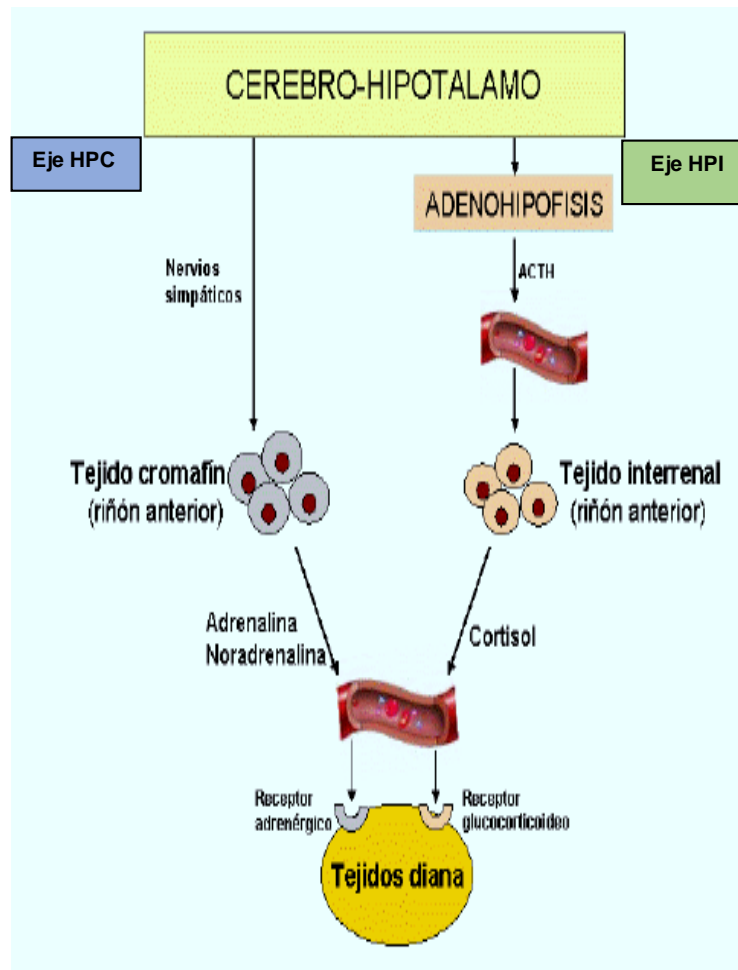


Figura 16. Elementos neuroendocrinos implicados en la respuesta primaria al estrés en los peces teleosteos. Modificado de Gesto et al. (2010).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

3.3.2.1.1 Eje HPC.

3.3.2.1.1.1 Síntesis de Catecolaminas.

La biosíntesis de las CAs, ocurre en el interior de la célula cromafín y se da a partir de tirosina mediante procesos de hidroxilación y descarboxilación. Es decir, el proceso inicia una vez que la tirosina es convertida en L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA) por la enzima tirosina hidroxilasa (limitante de la biosíntesis de las catecolaminas) (Reid et al., 1998; Bentley, 2002).

Luego, L-DOPA es descarboxilada a dopamina (DA) por la L-aminoácido aromático descarboxilasa. Posteriormente, dentro de la vesícula cromafín, la DA es hidroxilada por la dopamina- β -hidroxilasa, produciendo noradrenalina, que a su vez producirá adrenalina fuera del gránulo por acción de la enzima feniletanolamina-N-metiltransferasa presente únicamente en las células que sintetizan adrenalina) (Figura 17) (Reid et al., 1998; Bentley, 2002).

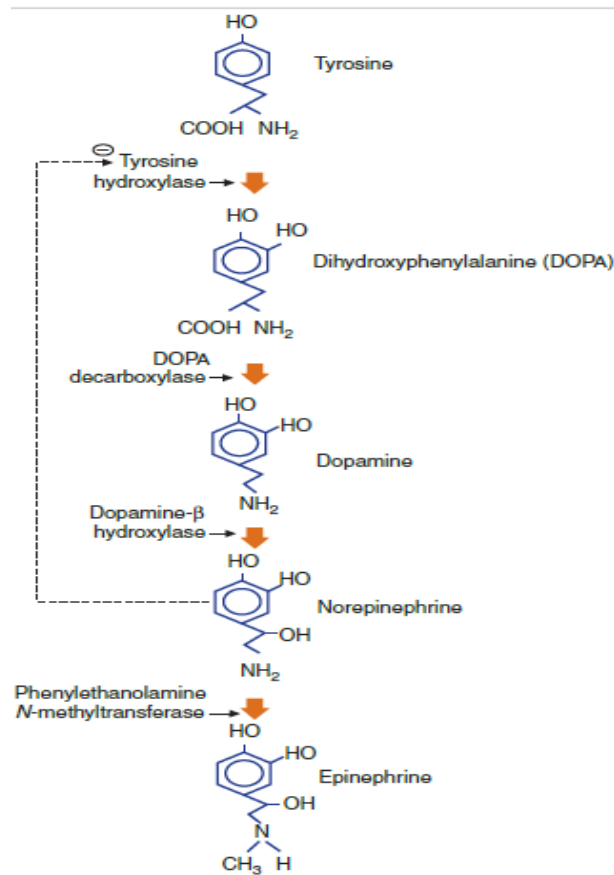


Figura 17. Ruta de biosíntesis de las catecolaminas. Tomada de Bentley (2002).

3.3.2.1.1.2 Liberación de Catecolaminas.

Ante una situación de estrés agudo, los estímulos que se generan primero son percibidos por los sensores del SNC, específicamente en el hipotálamo y es activado como primera fase de actuación inmediata el eje HPC (Reid et al., 1998; Schreck et al., 2001), a través de las fibras nerviosas que inervan las células cromafines del riñón anterior, que son estimuladas por el sistema simpático a través de receptores colinérgicos (Nicotínicos-activadores y Muscarínicos-inhibidores) acoplados a proteínas G presentes en las membranas de las células cromafines (Reid et al., 1998).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Por lo tanto, se induce a la liberación del neurotransmisor acetilcolina (ACh), que actúa sobre los receptores colinérgicos nicotínicos causando la despolarización de la membrana celular, permitiendo la entrada del calcio (Ca) a través de los canales de calcio voltaje dependientes. En ese sentido, se induce la síntesis de las catecolaminas (A, y NA), seguido de la exocitosis de los gránulos cromafínicos que permitirán la liberación inmediata (1-2 min) y masiva de las CAs en la circulación hasta llegar a sus órganos dianas (Figura 18) (Perry *et al.*, 2004).

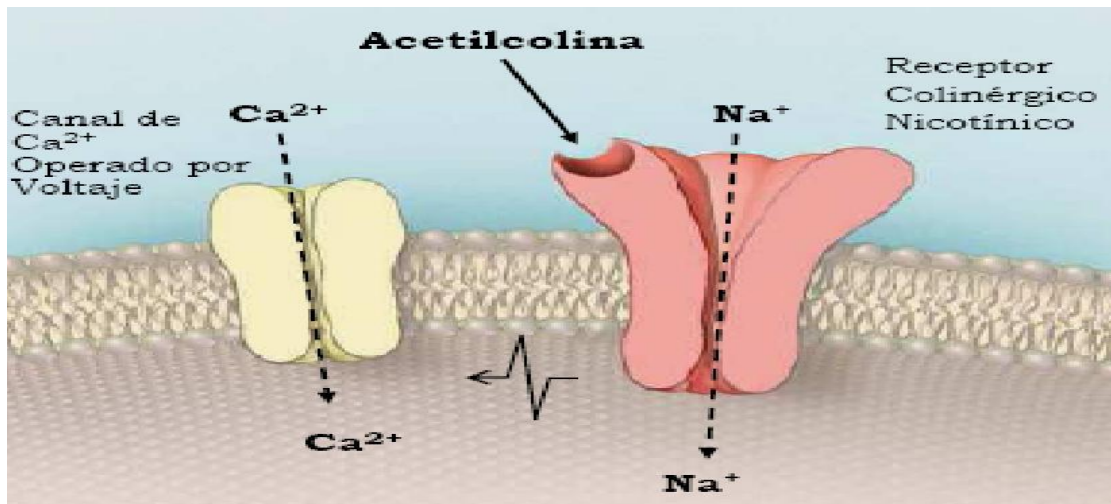


Figura 18. Acción de acetilcolina al unirse a su receptor. Tomado de Vidaña y Medina (2013).

Para el caso del tejido cromafin, se libera principalmente A, sin embargo también pequeñas cantidades de NA (Rodríguez, 2017; Barandica y Tort, 2008). Por otra parte, Reid *et al.* (1998) hace referencia a que otros mediadores pueden estar influenciando la secreción de catecolaminas a la sangre, tal y como encontraron en trucha arcoíris, donde tanto ACTH como la serotonina (5HT) influyen la secreción de catecolaminas.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Por otro lado, ante un estrés agudo y en vista de la vida media en plasma de las catecolaminas (menor a 10 min) (Wendelaar Bonga, 1997), el aumento de estas no perdura. Sin embargo, ante un estrés crónico el aumento de los niveles circulantes de catecolaminas puede prolongarse durante horas o días (Reid et al., 1994; Wendelaar Bonga, 1997).

3.3.2.1.1.3 Efectos fisiológicos de Catecolaminas.

Al igual que en los mamíferos, en los peces el incremento de los valores de catecolaminas sanguíneos ejercen sus diversos efectos biológicos mediante la unión a los receptores α y β presentes en la membrana plasmática (Reid et al., 1994) y por acción de enzimas implicadas en su metabolización inicial: la monoamina oxidasa (MAO) que se localiza en la mitocondria y la catecol O-metiltransferasa (COMT) en el citoplasma de las células de los órganos diana de las CAs (Azpelata, 2013). La acción de las catecolaminas, se da actuando principalmente como estimuladoras del catabolismo (Azpelata, 2013) ejercen sus efectos, casi exclusivamente, en tejidos periféricos y no en el cerebro, porque las catecolaminas no cruzan fácilmente la barrera hematoencefálica (Azpelata, 2013).

En respuesta al estrés, los efectos fisiológicos de las CAs en los peces son: el aumento de la frecuencia respiratoria y cardiaca (aumento del hematocrito, tasa ventilatoria y flujo sanguíneo branquial), el aumento del transporte de oxígeno y la movilización de los sustratos energéticos (Figura 19) (aumento de la glucemia, movilización de ácidos grasos) (Gesto et al., 2014) dirigidos a aliviar los efectos perjudiciales asociados con los estresores agudos (Wendelaar-Bonga, 1997; Flores, 2002; Perry, et al. 2004).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Además, se ha encontrado en el hígado de peces teleósteos que tanto la adrenalina como la noradrenalina ejercen efecto sobre los receptores α y β -adrenérgicos (la potencia de ambas catecolaminas difiere entre especies), dando lugar al efecto hiperglucémico ocasionado por la estimulación de la glucogenólisis y de la gluconeogénesis, desde sus depósitos de reserva en los hepatocitos (Wenderlaar-Bonga, 1997). Por lo tanto, una vez que la adrenalina se une a su receptor específico acoplado a la proteína G, en la membrana celular del hepatocito, el receptor es activado e interactúa en la membrana con moléculas de proteína G. Así, el receptor acoplado a la proteína G se disocia y ambos pueden difundirse libremente en el mosaico líquido de la membrana celular. Mientras persiste esta actividad se puede activar una enzima de membrana celular denominada adenilato ciclasa que entra en contacto por difusión en la membrana. La adenilato ciclasa posee un sitio activo del lado citoplasmático de la membrana celular y, cuando se encuentra activada, cataliza la formación del segundo mensajero llamado AMP cíclico (cAMP) a partir del ATP en el interior de la célula (Hill et al., 2006).

El cAMP activa una proteincinasa denominada proteincinasa dependiente del cAMP (cAPK), mediante la inducción de su disociación en dos unidades enzimáticas separadas. Por lo tanto, las unidades de cAPK activadas fosforilan y activan una segunda proteincinasa llamada glucógeno fosforilasa cinasa (GPK). Por último, las moléculas de GPK activas fosforilan y activan la enzima diana final llamada glucógeno fosforilasa (GP) (Hill et al., 2006). La GP tiene como función escindir unidades de glucosa de los polímeros de glucógeno almacenados en las células para que la glucosa pueda liberarse en la circulación y distribuirse en distintas partes del cuerpo. De esta forma, se desencadena la glucogenólisis hepática. En resumen, la fosforilasa quinasa inhibe la



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

fosforilación de la sintasa, es decir, la adrenalina inhibe la síntesis de glucógeno hepático (Figura 20) (Hill et al., 2006).

Sin embargo, ante un estrés crónico el efecto de las catecolaminas sobre la homeostasis de la glucosa no parecer ser tan evidente, en cambio el aumento de los niveles de glucosa parece ser dependientes de los efectos del cortisol (Reid et al., 1994). Además, en otros vertebrados incluidos los peces, los neurotransmisores monoaminérgicos 5-HT, DA y NA también participan en la respuesta al estrés (Kulczykowska y Sánchez, 2010). Bajo ese contexto, varios estudios realizados muestran un efecto anorexigénico que ejercen estas monoaminas cerebrales en distintas especies de peces (Otero, 2017). Tal es el caso reportado por Overli y colaboradores. (2005) en trucha arco iris sometidas a una situación de estrés social, en el que se pudo observar una reducción en la ingesta de alimento. Por lo tanto, De Pedro y colaboradores. (1998) hacen mención a una posible interacción entre el sistema CRF y el sistema catecolaminérgico hipotalámico en la regulación de la ingesta que da lugar al efecto anorexigénico de los péptidos de la familia CRF y de las monoaminas cerebrales, como resultado de una interacción entre ambos sistemas.

3.3.2.1.2.3 Mecanismo de regulación de Catecolaminas.

El aumento de las concentraciones intracelulares de las CAs (adrenalina y noradrenalina) hiporregula la actividad de la tirosinahidroxilasa mediante el mecanismo de retroalimentación negativa (Feed-back) y a medida que se liberan CAs de los gránulos secretores en respuesta a un estímulo se depleccionan estos catecoles citoplasmáticos,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

liberándose la retroinhibición de la enzima tirosina hidroxilasa (Otero, 2017).



Figura 19. Esquema de la respuesta fisiológica al estrés en peces. Tomada de Wendelar-Bonga (1997).



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

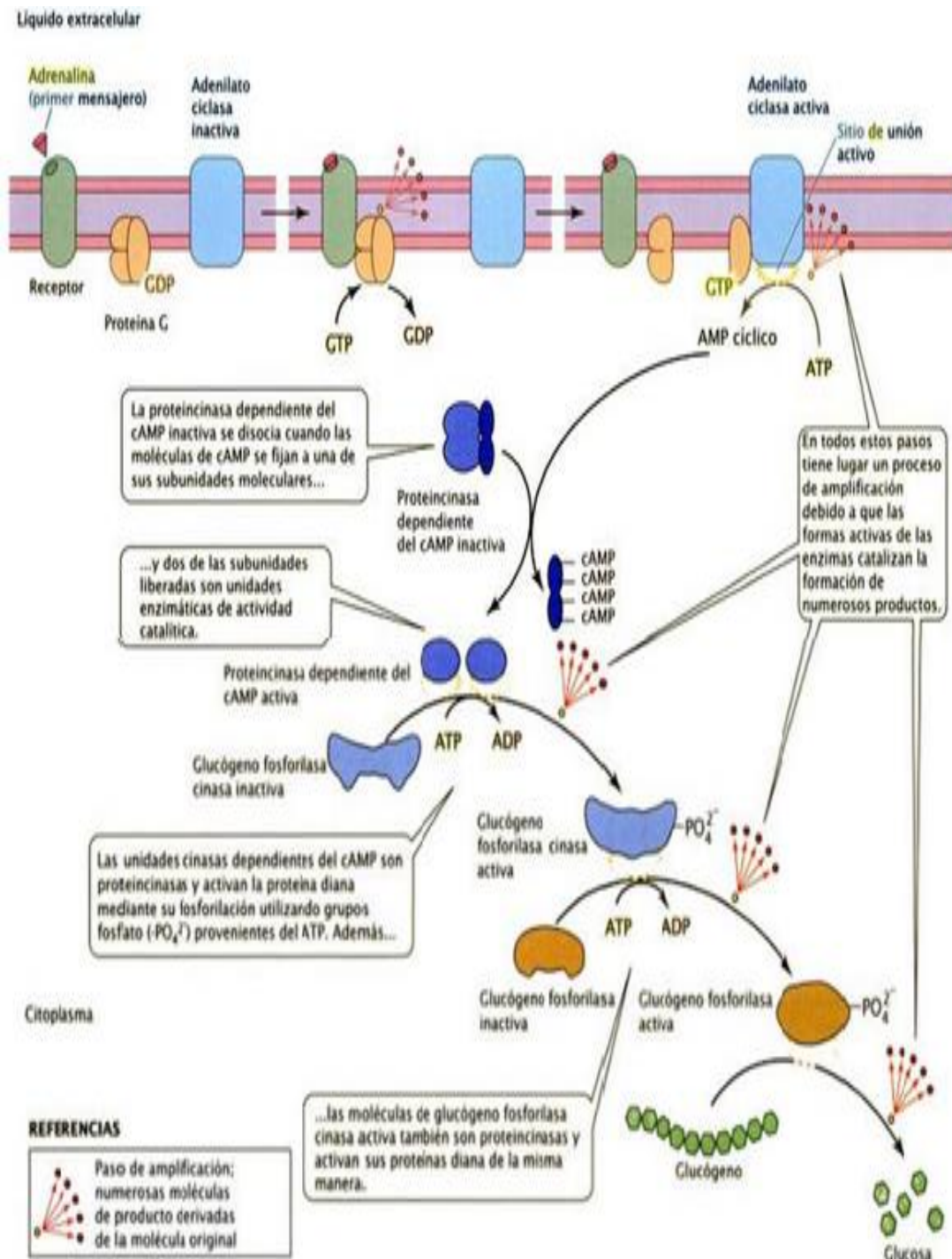


Figura 20. Mecanismo de acción de la adrenalina conduce a la liberación enzimática de glucosa en el interior de un hepatocito. Tomado de Hill et al. (2006).



3.3.2.1.2 Eje HPI.

Ante la acción de un agente estresante a nivel hipotalámico se perciben los estímulos tanto de forma endógena como exógena del organismo. Por consiguiente, aunque de forma más lenta es activado el eje HPI (en comparación con el eje HPC) como parte de la segunda fase de actuación, lo que desencadenará la liberación del cortisol desde las células interrenales (Flik et al., 2006 Schreck et al., 2001; Azpelata, 2013), es la acción de la hormona adenocorticotropa (ACTH) enviada rápidamente a la sangre en respuesta al estrés, siendo probable que las mayores concentraciones de cortisol se encuentren relacionadas con los mayores niveles de ACTH (Ruane et al., 1999). Por el contrario, Azpelata (2013) plantea que el incremento de los niveles de cortisol en ocasiones no está acompañado de un aumento en los niveles de ACTH, lo que sugiere la existencia de otros mecanismos reguladores de la esteroidogénesis adrenal.

A nivel hipotalámico se da la síntesis y liberación de los neuropéptidos de la familia del CRF que se une a receptores específicos acoplados a proteínas G (CRF-R1 y CRF-R2) en las células corticotropas adenohipofisarias (Flik et al., 2006), estimulando la biosíntesis y liberación de la ACTH mediante la activación del receptor CRF-R1 desde la parte anterior de la pituitaria o adenohipófisis hacia la circulación (Flik et al., 2006).

El CRF no solamente cumplen la función hipofisiotrófica activadora del eje HPI, sino que también están relacionados con varias funciones fisiológicas, algunas de ellas en respuesta a estrés (Flik et al., 2006). En ese contexto, Bernier et al. (2009) señalan el papel anorexigénico de CRF, fungiendo como mediadores endógenos de la inhibición de la ingesta en peces, tanto a nivel central como periférico, bajo situaciones de estrés.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Además, el aumento de CRF provoca la liberación tanto de ACTH como de endorfinas y melanotrofinas que derivan de un precursor común, la pro-opiomelanocortina (POMC) y son sintetizados por dos tipos celulares: las células corticotrofas que secretan como principal producto la ACTH, en tanto que las hormonas estimulantes de melanocitos (α MSH) y β -endorfinas son los principales productos secretados por las células melanotrofas ubicadas en la parte intermedia de la hipófisis (Wendelaar Bonga, 1997; Barandica y Tort, 2008; Bernier et al., 2009). Bajo ese contexto, la presencia de estos tipos celulares posibilitaría que diferentes tipos de estrés actúen sobre una u otra célula, secretándose hormonas específicas para cada caso (Rotllant et al., 2000; Pepels et al., 2004).

La actividad del eje CRH-ACTH-cortisol domina la respuesta al estrés agudo (minutos a horas). No obstante, durante el estrés crónico persistente (días) la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) hipotalámica con acción corticotrópica más leve y las hormonas estimulantes de melanocitos (MSH) intermedias de pars como otra fuente de señal corticotrópica pueden asegurar elevaciones leves de cortisol para hacer frente a las condiciones estresantes persistentes (Flik et al., 2006).

3.3.2.1.2.1 Síntesis de cortisol.

El cortisol es el principal corticosteroide de los teleósteos y sus concentraciones se elevan marcadamente en situaciones de estrés (Bernier et al., 2009). Bajo ese contexto, mediante un mecanismo similar al de mamíferos, en los peces teleósteos la ACTH se une a los receptores de melanocortina de tipo 2 (MC2R) ubicados en la membrana de las células esteroideogénicas interrenales (Flores, 2002; Azpelata, 2013) para inducir la producción y liberación del cortisol al torrente sanguíneo



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

(Wendelaar Bonga 1997; Mommsen, Vijayan y Moon, 1999; Pepels et al., 2002).

El cortisol se origina a partir de los ésteres de colesterol circulantes que se encuentran unidos a las lipoproteínas plasmáticas. Por consiguiente, una serie de receptores presentes en la membrana de las células esteroideogénicas introducen los ésteres de colesterol al citoplasma de la célula, donde una lipasa rompe el enlace éster, permitiendo la liberación del colesterol (Sewer et al., 2007; Alsop y Vijayan, 2009). Posteriormente, la entrada del colesterol desde el citoplasma hasta la membrana mitocondrial interna a través del espacio intermembrana se realiza gracias a un conjunto de proteínas, de las cuales la más importante es la proteína aguda reguladora de la esteroideogénesis (StAR, de sus siglas en inglés, steroidogenic acute regulatory protein) (Sewer et al., 2007; Alsop y Vijayan, 2009). Seguidamente, en la matriz mitocondrial, la enzima citocromo P450_{scc} (desmolasa) separa los seis carbonos terminales de la cadena lateral del colesterol, generando pregnenolona, que abandona la mitocondria y se transforma en 17-hidroxiprogesterona en el citoplasma por acción de la enzima 3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3βHSD) (Sewer et al., 2007; Alsop y Vijayan, 2009).

Finalmente, después de una serie de hidroxilaciones adicionales dependientes de NADP⁺, que conducen a la formación de los metabolitos intermediarios que rinden finalmente los diferentes esteroides adrenales característicos de cada especie, la enzima 11-β-hidroxilasa es la responsable de catalizar la última reacción de la ruta biosintética del cortisol (Sewer et al., 2007; Alsop y Vijayan, 2009) (Figura 21).

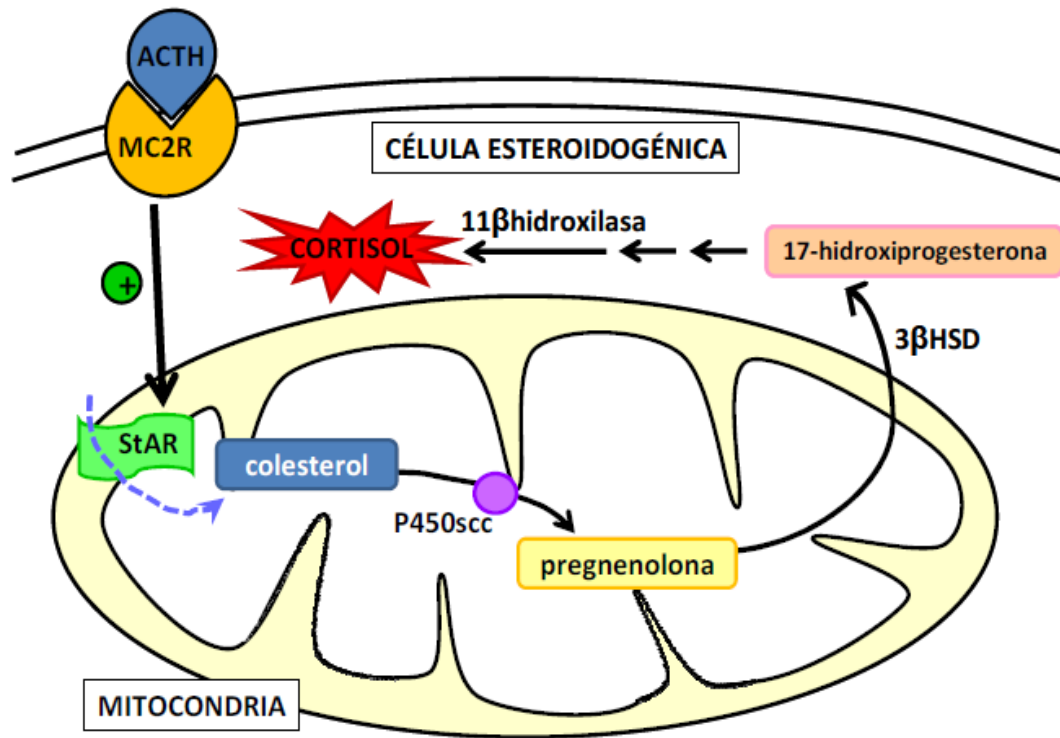


Figura 21. Síntesis de cortisol en una célula esteroideogénica. Tomada de Azpelata (2013).

3.3.2.1.2.2 Efectos fisiológicos del cortisol.

En los peces, el incremento de cortisol circulante es la principal señal indicadora de la activación del eje HPI en respuesta a los agentes estresantes (Azpelata, 2013; Conde-Sieira et al., 2013; Gesto et al., 2014). No obstante, algunas veces se pueden observar niveles elevados de cortisol no necesariamente por efecto de la exposición a situaciones estresantes (Greenberg et al., 2002), pues este también juega un papel importante en la osmorregulación, el crecimiento y la reproducción (Mommsen et al., 1999). El cortisol, por su naturaleza insoluble se une de forma irreversible a proteínas plasmáticas para poder ser transportado a través de la sangre hasta sus órganos dianas (Azpelata, 2013).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

Por otro lado, en los peces el cortisol muestra dos acciones, glucocorticoide y mineralocorticoide (Prunet et al., 2006), lo que le permite unirse a dos clases de receptores: tipo I (receptor de mineralocorticoides, MR) y tipo II (receptor de glucocorticoides, GR), confiriéndole a los peces mayor plasticidad en la respuesta a agentes estresantes (Bury y Sturm, 2007).

Debido a su capacidad para unirse tanto a GR como a MR, el cortisol tiene un amplio espectro de acciones en los peces, pudiendo actuar como mineralocorticoide, regulando el balance osmótico tanto en peces de agua dulce como de agua salada, y como glucocorticoide afectando el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas (Mommssen et al., 1999; Azpelata, 2013).

En los peces, cuando el cortisol es liberado en respuesta al estrés ocasiona un aceleramiento en el metabolismo para proporcionar más ATP (Aziza y Khaldi, 2010); aumentando la producción de glucosa en el hígado (órgano central en los procesos metabólicos) por la activación de las vías gluconeogénicas, glucogenolíticas, proteolítica y lipolítica (Bernier, 2009; Aziza y Khaldi, 2010). En este contexto, en un estudio en tilapia (*O. mossambicus*) se observó incremento del potencial glucogenolítico en hepatocitos tras una exposición a corticosteroide (Mommssen et al., 1999). Asimismo, estudios posteriores en trucha arcoíris reportan niveles elevados de cortisol y glucosa en plasma y niveles disminuidos de glucógeno en el hígado como respuesta al estrés (Conde-Sieira et al., 2010; Gesto et al., 2013).

En otro aspecto, el cortisol como hormona resultante de la estimulación del eje HPI podría operar como regulador de la ingesta tras la exposición a una situación de estrés. De hecho, la intensidad de este efecto es dependiente de la severidad del estrés y del estado fisiológico del animal previo al estrés, en consecuencia se dará una reducción de la



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

ingesta y pérdida de comportamiento alimentario (Wendelaar Bonga, 1997; Bernier, 2009).

Bernier y colaboradores (2009) reportan que el efecto de la administración crónica de cortisol sobre la ingesta en el carpín (*Carassius spp.*) es dosis-dependiente y presenta una acción orexigénica a dosis bajas y anorexigénica a dosis mayores, interaccionando para ello con otros péptidos neurales reguladores de la ingesta, como el neuropéptido Y (NPY) o CRF. Por consiguiente, la mayor susceptibilidad de los peces bajo condiciones de estrés está relacionada con la influencia del cortisol sobre la actividad inmunitaria, debido a sus efectos inmunosupresores (Wendelaar-Bonga, 1997; Wu et al., 2006).

3.3.2.1.2.3 Mecanismo de regulación del cortisol.

A nivel hipofisario e hipotalámico, tras el estrés se da la inhibición de la liberación del cortisol. Al unirse el cortisol al receptor de los GR localizados en las células productoras de ACTH, se inhibe la salida de la ACTH a nivel hipofisario y del CRF a nivel hipotalámico, de esta forma se detiene la producción del cortisol como consecuencia del estrés, permitiendo al organismo volver a su estado basal (Wendelaar-Bonga, 1997).



3.3.2.1.3 Respuestas al estrés.

Bajo una situación de estrés, y desde el punto de vista fisiológico, tanto en los peces como en el resto de vertebrados, el SGA se manifiesta en forma de respuestas fisiológicas que se abordan desde aspectos moleculares hasta el nivel social del individuo. Por tal razón, se clasifican en tres niveles, en función del momento de su aparición y del nivel de afectación del sujeto: respuestas primaria, secundaria y terciaria (Wendelaar Bonga, 1997) (Figura 22).

La **respuesta primaria** (minutos), se inicia a nivel del sistema límbico cerebral, desarrollándose a través de la activación de componentes neuroendocrinos (Conde-Sieira, 2012). Bajo ese contexto, se activa la vía del eje HPC que conduce a una rápida liberación a la sangre de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y en menor medida dopamina) desde las células cromafines (Tort et al., 2005; Azpelata, 2013) hacia los receptores colinérgicos (Reid et al., 1998). En paralelo, aunque de forma más lenta, se produce la activación de otra vía mediada por HPI que produce una liberación de cortisol al torrente sanguíneo, desde las células esteroideogénicas adrenales (Wendelaar-Bonga 1997; Colombe et al., 2000; Conde-Sieira, 2012; Barton, 2002; Tort et al., 2005; Flores, 2002; Correa et al., 2003; Perry et al; 2004; Gesto et al., 2008; Aziza y Khaldi, 2010; Azpelata, 2013). Además, la secreción de cortisol es más lenta que la de las catecolaminas, pero sus efectos son más prolongados (Wendelaar-Bonga 1997; Colombe et al., 2000). Por lo tanto, los elevados niveles de catecolaminas y cortisol en la circulación son considerados como indicadores primarios de la respuesta primaria al estrés y al mismo tiempo inician de forma inmediata alteraciones metabólicas en una variedad de tejidos cuya finalidad, es obtener energía extra, la cual se requiere para preparar al animal para una posible huida,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

enfrentamiento o cualquier otra reacción que le permite evadir y/o reducir el impacto del agente estresante (Conde-Sieira, 2002; Gesto et al., 2010; Gesto et al., 2013; Rodríguez, 2017).

Por consiguiente, si el estrés persiste se desencadenarán una serie de **respuestas secundarias**, que están referidas principalmente a los efectos producidos por las catecolaminas y el cortisol, que incluyen cambios cardiorrespiratorios (incremento de la frecuencia y el gasto cardíacos, de la frecuencia ventilatoria, del flujo sanguíneo principalmente a los órganos respiratorios), hematológicos (aumento del hematocrito), un aumento de la movilización de hidratos de carbono y lípidos (con el consiguiente incremento en los niveles de glucosa, lactato y ácidos grasos circulantes), entre otros. La mayoría de estas respuestas se atribuyen a la acción de las catecolaminas, actuando principalmente como estimuladoras del catabolismo (Mommsen et al., 1999; Flores, 2002; Barandica y Tort, 2008; Azpelata, 2013; Rodríguez, 2017). Estas 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 **respuesta terciaria** se observa ante un estrés crónico que produce un agotamiento fisiológico con consecuencias negativas a largo plazo, afectando la función inmune (con la consecuente aparición de patologías), la reproducción y el crecimiento. Asimismo, se presenta una reducción en la capacidad para tolerar otros agentes estresantes adicionales, llegando incluso a poner en peligro la supervivencia del organismo y de la población (Wendelaar Bonga, 1997; Mommsen et al., 1999; Flores, 2002; Pottinger, 2008; Barandica y Tort, 2008; Karakach et al., 2009; Rodríguez, 2017).

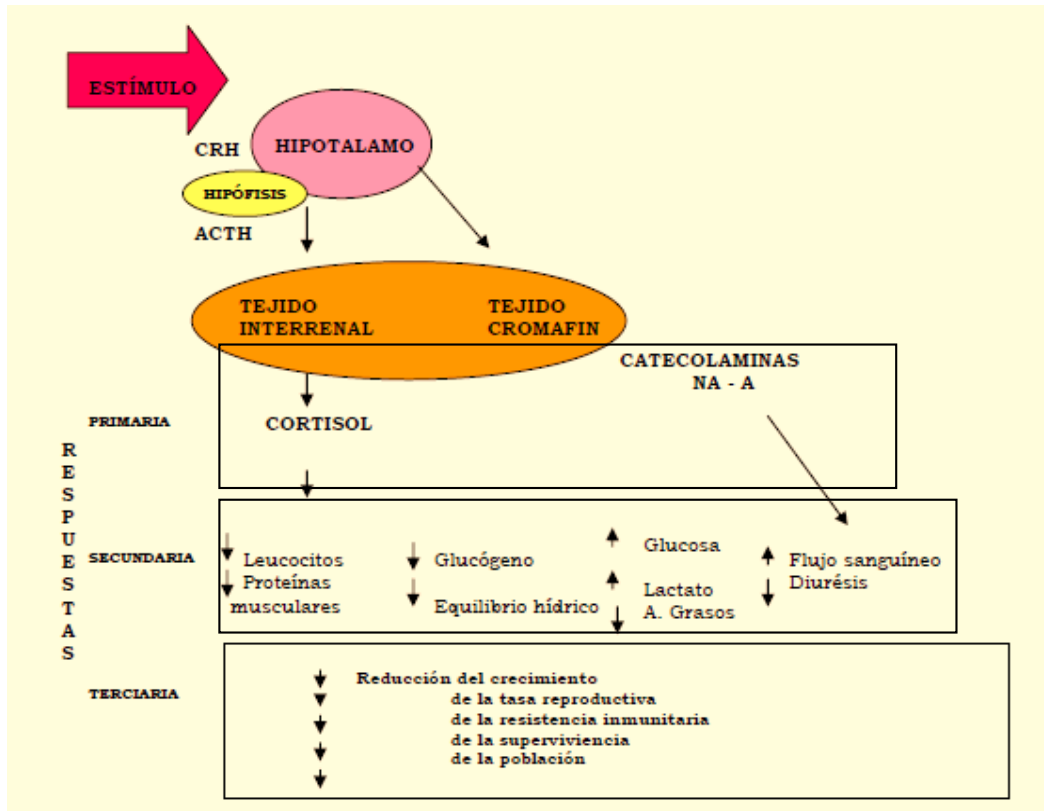


Figura 22. Tipos de respuestas a estrés en los diferentes niveles de organización biológica. Modificado de Tort et al. (1998).

3.3.2.1.4 Indicadores de estrés

Según Tort y colaboradores (2005), para identificar los peces estresados se utilizan indicadores neuroendocrinos como la adrenalina y el cortisol que son inductores de cambios rápidos a nivel cardiovascular y metabólico, que se producen en la respuesta primaria al estrés. Además, para el caso del cortisol está más relacionado con los estresores crónicos, como parte final del eje HPI. Por otro lado, también se pueden considerar como indicadores metabólicos los niveles de glucosa, de lactato y los iones del plasma, debido a que se produce un incremento en sus concentraciones como parte de la respuesta secundaria ocasionada por la acción del cortisol y las CAs bajo condiciones estresantes (Rotllant y Tort 1997; Rotllant, et al., 2000; Tort et al., 2005).



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

4. MATERIALES Y METODOS



4.1 Animales de estudio

Las Tilapias rojas (*Oreochromis spp.*) de 150 ± 10 g de peso se obtuvieron en la Finca de producción de Tilapia TILAPAC (a 60 Km de la Ciudad de Choluteca, Honduras) y se transportaron en tanques con suministro de oxígeno hasta las instalaciones de la Finca de Don Marlon Alvarenga en la Ciudad de Choluteca, Honduras. Posteriormente, se distribuyeron al azar en tanques experimentales (TE) de plástico de 100 L con un sistema de difusión de aire. Los TE contenían 8 peces/tanque y se aclimataron a razón de 3 ppt/día hasta llegar a las salinidades de 10 y 20 ppt. Asimismo, los TE se mantuvieron libres de residuos orgánicos y se llevaron a cabo controles diarios del pH, que dieron valores entre 6.9 y 7.4, valores de oxígeno disuelto (OD) entre 7.4 – 8.0 mg/L, la temperatura del agua se mantuvo constante a 30-32 °C. De igual modo, los peces se alimentaron hasta la saciedad, todos los días, usando pienso comercial (Cargill); composición aproximada de: 32% proteína cruda, 6% carbohidratos, 25% grasa cruda y 15% ceniza). El experimento descrito cumple con las normas de la Unión Europea (2010/63/EU) y del gobierno español (RD 1201/2005) para el uso de animales en investigación.

4.2 Diseño experimental y toma de muestra

Se diseñó un experimento de dos factores que analiza salinidad-tiempo de absorción de nutrientes y su reflejo en el metabolismo del glucógeno, desde las 0 horas hasta las 20 horas con un intervalo de 4 horas entre muestreo. Los peces se colocaron en una batería de 6 TE por cada concentración salina (0 ppt, 10 ppt y 20 ppt), N=8. Después de la aclimatación los peces no se alimentaron durante las 48 horas previas al muestreo. Posteriormente, los peces fueron anestesiados usando MS-



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

222. Una vez anestesiados, se procedió a tomar las muestras de cerebro e hígado y se congelaron a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la posterior evaluación de los niveles de glucógeno.

4.3 Determinaciones analíticas

4.3.1 Cuantificación de los niveles de metabolitos.

Las muestras de tejido congelados fueron usadas para evaluar los niveles de glucógeno tisular. Las alícuotas de tejido congelado se homogenizaron con el sonicador FISHER SCIENTFIC, Sonic dismembrator, modelo 100 con 7.5 mL de ácido perclórico (PCA) al 6% por gramo de tejido. Tras la sonicación se añadió 7.5 mL/g tejido de bicarbonato potásico (KHCO_3) 1M. El homogenado se centrifugó durante 4 min a 13,000rpm en la centrífuga FISHER SCIENTFIC, modelo (accuSpin Micro 17). Se usó el sobrenadante para cuantificar los niveles de glucógeno según el método de Keppler y Decker (1974). La glucosa obtenida tras la ruptura del glucógeno (niveles de glucosa libre) se determinó enzimáticamente utilizando un kit comercial (Spinreact) adaptado al formato de microplacas. Para desarrollar la curva estándar se usó D-Glucosa. Previo a las lecturas de absorbancia, la microplaca se agito por 5 min y se colocó en la estufa J.P Selecta, modelo DIGITHEAT 150L por 10 min a temperatura de 37°C . Posterior se introdujo en el lector de microplacas (Bio Tek ELx 800) para obtener la lectura de absorbancia a 515 nm.



4.4 Análisis estadísticos

Para todos los experimentos la comparación entre los grupos se realizó usando Sigma Stat (SPSS Inc., Chicago, IL). Los datos se muestran como media \pm E.E.M. de cada grupo y las diferencias entre ellos se evaluaron mediante un ANOVA de una vía. El efecto de los tratamientos utilizados en el experimento del apartado 4.2 se evaluó mediante un ANOVA de dos vías con las variables tratamiento y tiempo como factores principales. Tras los análisis de varianza se realizó el test de comparaciones múltiples de Student Newman Keuls. En todos los casos el nivel de significación se estableció con un valor de $P < 0.05$. Previamente a estas pruebas estadísticas, se analizaron los datos mediante una prueba de normalidad (Shapiro-Wilks) y de homogeneidad de varianzas (prueba C de Cochran). Para determinar la relación de las fluctuaciones de los niveles de glucógeno hepático y cerebral a salinidades de 0, 10 y 20 ppt se utilizó el estadístico de correlación de Pearson.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

5. RESULTADOS



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

5.1 Fluctuación de la concentración del glucógeno hepático en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt.

La figura 23 muestra que en hígado hay una tendencia creciente de las concentraciones de glucógeno a las 4 horas postprandial, en las tres baterías experimentales (0, 10 y 20 ppt). Asimismo, la batería 0 ppt de salinidad muestra incremento significativo de la concentración de glucógeno hepático a las 4h postprandial y se mantiene hasta las 20 h de finalización del experimento. Sin embargo, la batería de 10 ppt presentó diferencias significativas de la concentración de glucógeno hasta las 12 h postprandial y se mantuvo de manera similar a la batería de 0 ppt hasta las 20 h. No obstante, a 20 ppt de salinidad, aunque se observa una ligera tendencia a incrementar la concentración de glucógeno, no hay diferencias significativas en el tiempo.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

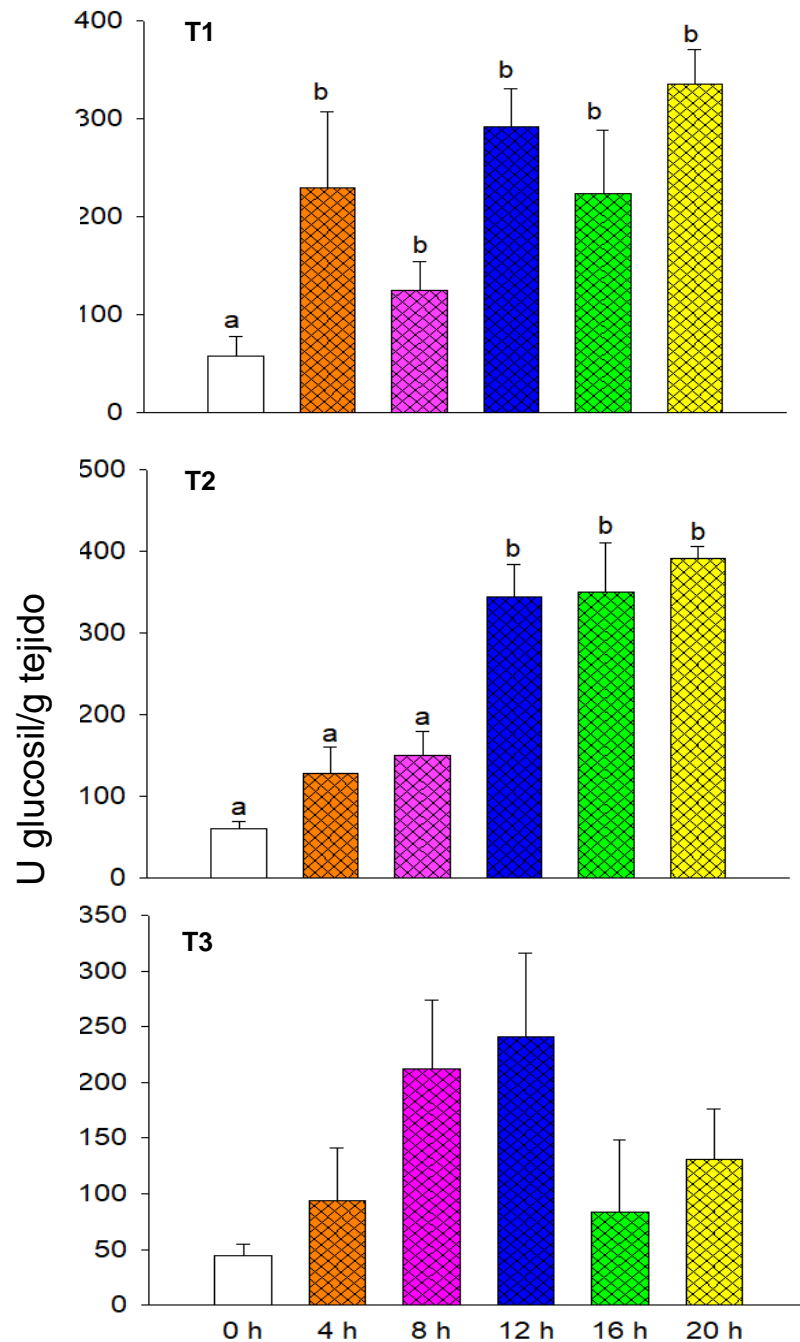


Figura 23. Niveles de glucógeno hepático tras la ingesta de alimento en tilapias roja *Oreochromis spp.* T1: 0 ppt, T2: 10 ppt, T3: 20 ppt. ppt: partes por mil; h: horas. Cada valor se corresponde a la media \pm EEM, N=8. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos.



5.1.1 Concentración de glucógeno hepático por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.

De manera general, la concentración de glucógeno hepático presenta valores inferiores de concentración en los peces con tratamiento de 20 ppt de salinidad, con respecto a los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt. (Figura 24).

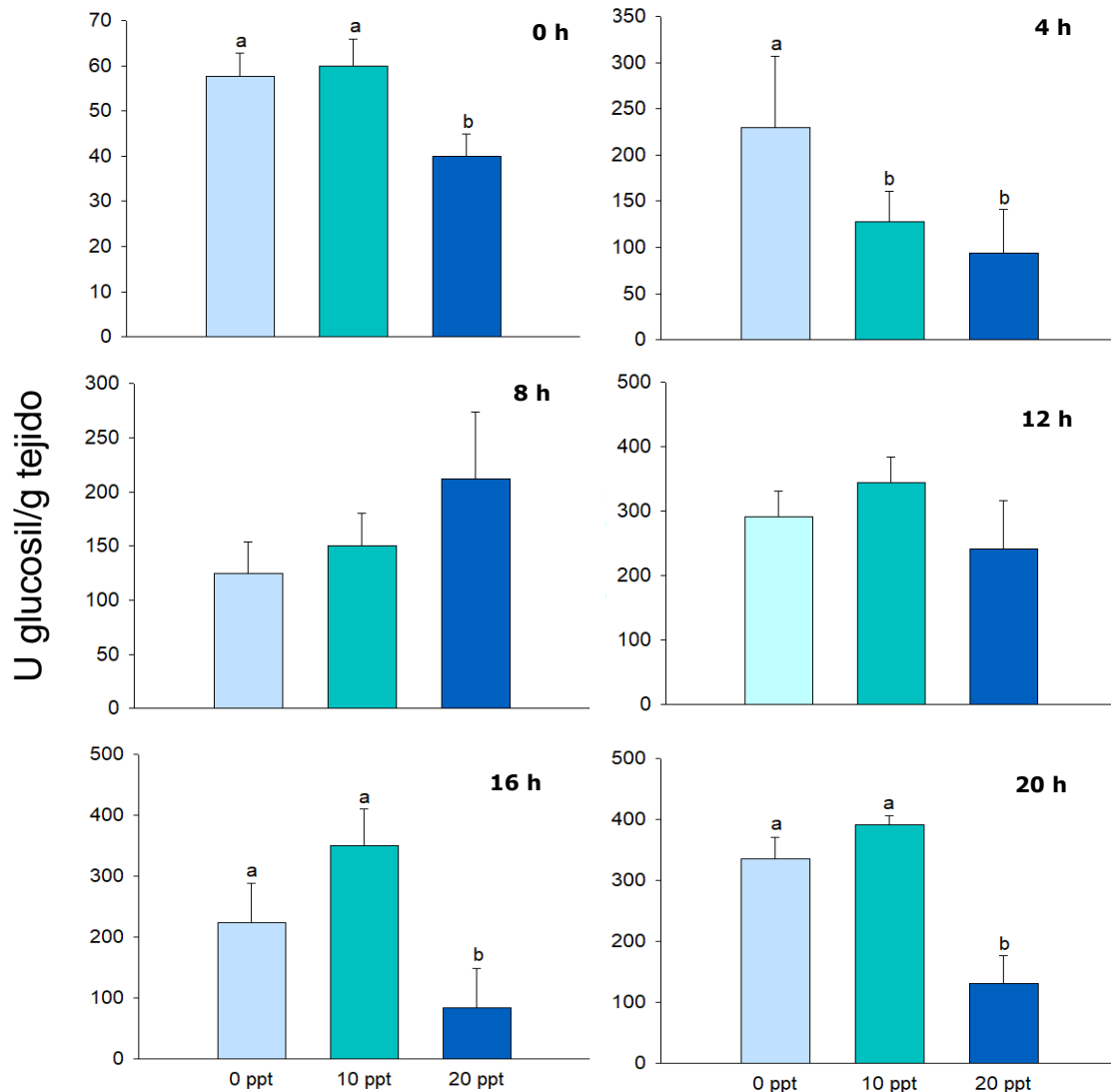


Figura 24. Fluctuación del glucógeno hepático por tiempo de muestreo (0h, 4h, 8h, 12h, 16h y 20h) en las tres baterías experimentales (0ppt, 10ppt y 20ppt de salinidad) tras la ingesta de alimento en tilapias roja *Oreochromis spp.* ppt: partes por mil; h: horas. Cada valor se corresponde a la media \pm EEM, N=8. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos.



5.2 Fluctuación de la concentración del glucógeno cerebral en el periodo de 20 horas, en salinidades de 0 ppt, 10 ppt y 20 ppt.

La figura 25 muestra que los niveles de glucógeno cerebral postprandial presentan una ligera tendencia creciente de las concentraciones en las tres baterías experimentales (0 ppt, 10 ppt, 20 ppt). Sin embargo, en salinidades de 0 ppt y 10 ppt los niveles de glucógeno presentan tendencia decreciente pasadas las 16 horas, mientras que los ubicados en 20 ppt inician decrecimiento del glucógeno pasadas las 12 horas posprandial.

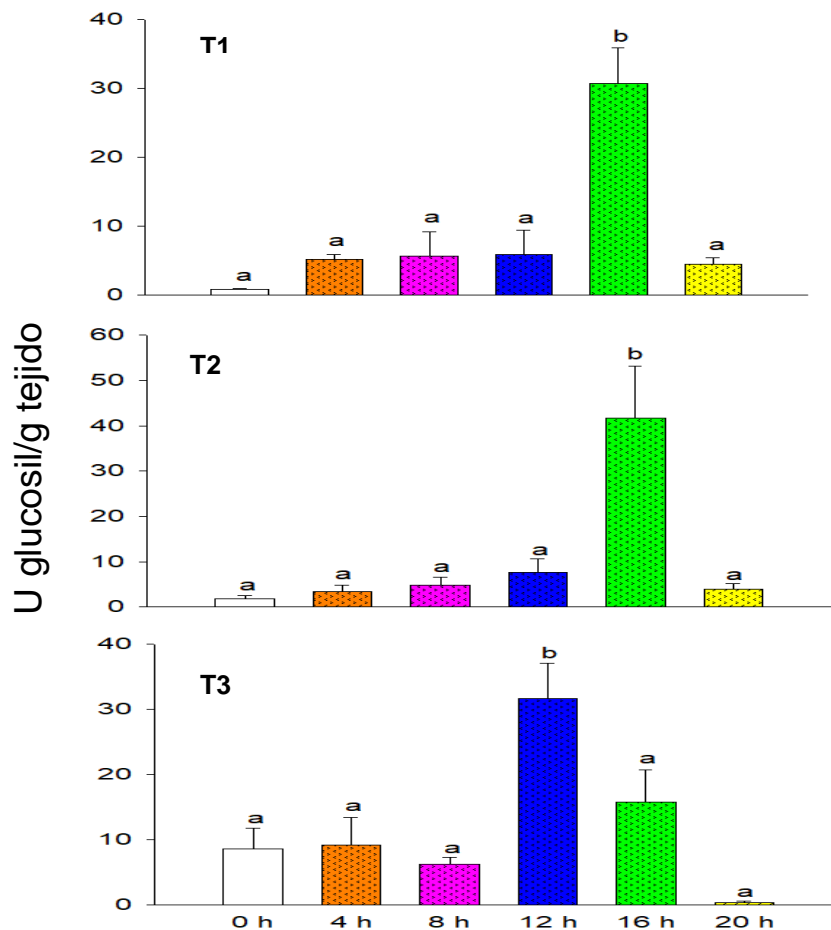


Figura 25. Niveles de glucógeno cerebral tras la ingesta de alimento en tilapias roja *Oreochromis spp.* T1: 0 ppt, T2: 10 ppt, T3: 20 ppt. ppt: partes por mil; h: horas. Cada valor se corresponde a la media \pm EEM, N=8. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos.



5.2.1 Concentración de glucógeno cerebral por intervalos tiempo de muestreo en salinidades de 0ppt, 10ppt y 20ppt.

Nuestros resultados muestran que entre el periodo de 0-12 horas los niveles de glucógeno cerebral, de manera general, son mayores en los peces presentes en salinidad de 20 ppt con respecto a los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt. Caso contrario se observa a las 16 y 20 horas tras la ingesta (Figura 26).

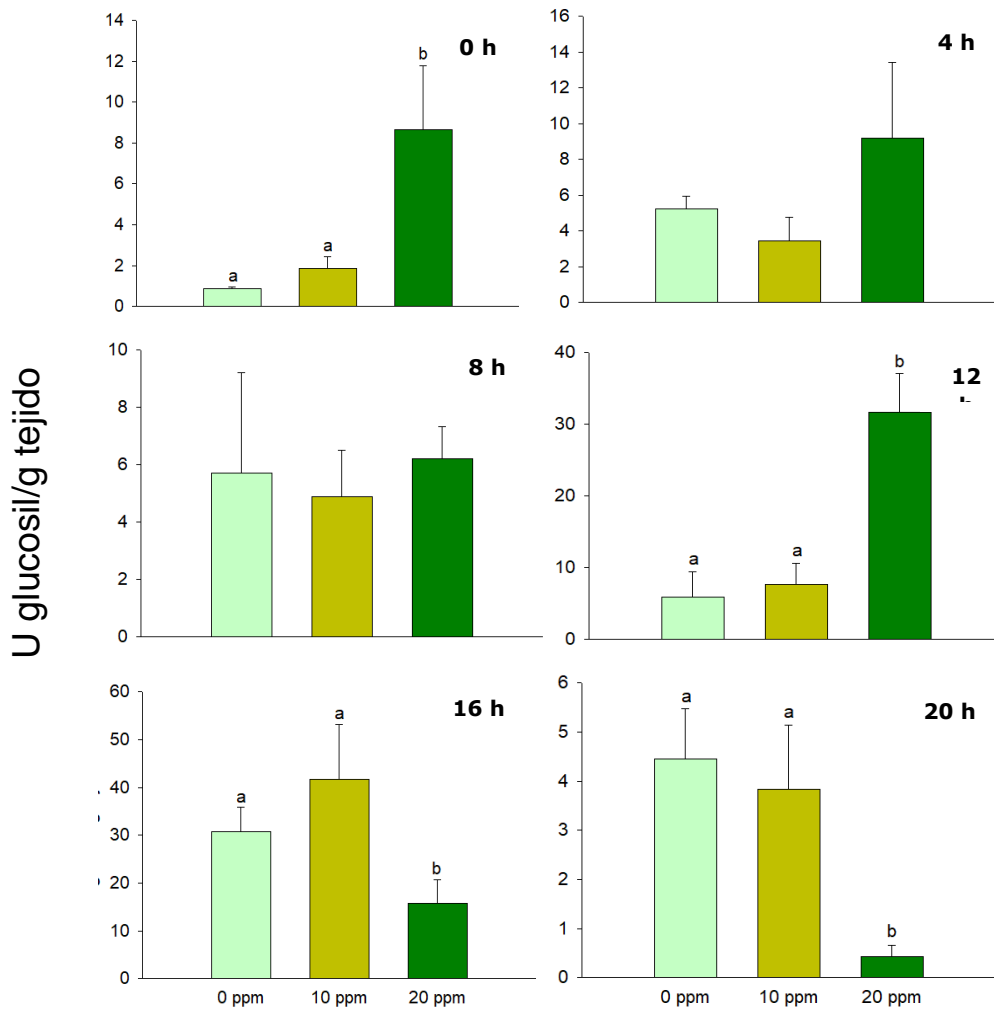


Figura 26. Fluctuación del glucógeno cerebral, por tiempo de muestreo (0h, 4h, 8h, 12h, 16h y 20h) en las tres baterías experimentales (0ppt, 10ppt y 20ppt de salinidad) tras la ingesta de alimento en tilapias roja *Oreochromis spp.* ppt: partes por mil; h: horas. Cada valor se corresponde a la media \pm EEM, N=8. Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0.05$) entre grupos.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

5.3 Correlación del metabolismo del glucógeno hepático y cerebral ante diferentes concentraciones salinas.

La Figura 27 muestra que existe correlación significativa en la fluctuación de los niveles de glucógeno hepático y cerebral en salinidades de 0 y 10 ppt.

Cell Contents:					
Correlation Coefficient					
P Value					
Number of Samples					
	Higado 10 ppm	Higado 20 ppm	Cerebro 0 ppm	Cerebro 10 ppm	Cerebro 20 ppm
Higado 0 ppm	0.850 0.0319 6	0.344 0.504 6	0.163 0.758 6	0.127 0.810 6	0.207 0.694 6
Higado 10 ppm		0.344 0.504 6	0.464 0.353 6	0.461 0.358 6	0.283 0.587 6
Higado 20 ppm			-0.190 0.719 6	-0.210 0.689 6	0.457 0.362 6
Cerebro 0 ppm				0.994 0.0000523 6	0.223 0.672 6
Cerebro 10 ppm					0.265 0.611 6
Cerebro 20 ppm					

Figura 27. Correlación del metabolismo del glucógeno hepático y cerebral ante diferentes concentraciones salinas.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

6. DISCUSIÓN



6.1 Caracterización preliminar del estudio:

El objetivo consistió en obtener evidencias, por primera vez en tilapia roja (*Oreochromis spp.*), que permita evaluar el efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno en tejido hepático y cerebral, tras la ingesta de alimento. En consecuencia, se diseñó un experimento de dos factores que analiza salinidad-tiempo de absorción de nutrientes y su reflejo en el metabolismo del glucógeno. Las concentraciones salinas aplicadas son similares a las usadas por otros investigadores para evaluar ritmos de crecimiento, porcentaje de sobrevivencia y parámetros hematológicos indicadores de estrés (Vieira et al., 2015; Lawson y Anetekhai, 2011) en tilapia GIFT (*Oreochromis niloticus*), estimulación simultánea de glucólisis y gluconeogénesis en intestino anterior (Yong et al., 2017) y niveles de expresión de ionocitos branquiales en periodo de aclimatación, de agua dulce a agua marina, en tilapia roja (Jeerawat et al., 2016). Asimismo, se diseñó el experimento para evaluar la fluctuación de los niveles de glucógeno postprandial en diferentes ambientes salinos (Yong et al., 2017).

Se sabe, que las tilapias pueden cultivarse en diferentes ambientes, incluido el salino. Sin embargo, según algunos investigadores, existen rangos tolerables para cada especie: *O. niloticus* es cultivada ampliamente en cuerpos de agua dulce; sin embargo, puede tolerar ciertos niveles de salinidad entre 0-8 ppt (Vieria et al., 2015). No obstante, a pesar de su capacidad de adaptación a la salinidad, es menos tolerante que otras especies de tilapia como *O. aureus* y *O. mossambicus* (Kamal y Mair, 2005).

Estudios realizados en *Oreochromis niloticus* por miembros de nuestro grupo de investigación han encontrado que tras la ingesta de alimento incrementan los niveles de glucosa plasmática a las 4 horas



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

postprandial (Castillo y Domínguez, 2018), y sabiendo que la hiperglucemia induce incremento de los niveles de actividad de la glucógeno sintetasa (Aguilar et al., 2010), es de esperarse que tras la ingesta de alimento, en tilapia roja, incrementen los niveles de glucógeno hepático y cerebral en las áreas establecidas como glucosensoras en teleósteos (Polakof et al., 2007b). Asimismo, que a concentración salina de 20 ppt, los niveles de glucógeno presenten valores inferiores a los observados en peces cultivados en agua con 0 y 10 ppt de salinidad pudiera deberse al consumo de energía para satisfacer los procesos de osmorregulación, tales como los cambios en el funcionamiento de las células de cloro presentes en el epitelio de las agallas y la actividad de la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ (Güner et al., 2005). Otro factor interesante a estudiar, es el efecto de la salinidad sobre el rendimiento del alimento ofrecido versus ganancia en peso de pez. Para ello, es necesario evaluar la tolerancia de la actividad-inhibición de las enzimas digestivas en presencia de diferentes concentraciones salinas (Moutou et al., 2004). Por lo tanto, estos procesos podrían explicar resultados sobre índices de ganancia de peso, factor de conversión alimenticia e índice de sobrevivencia de peces en cultivo.



6.2 Hígado

De manera general, nuestros resultados muestran una tendencia creciente de las concentraciones de glucógeno hepático a las 4 horas postprandial, en las tres baterías experimentales (0, 10 y 20 ppt). La batería 0 ppt de salinidad muestra incremento significativo de la concentración de glucógeno hepático a las 4h postprandial y se mantiene hasta las 20 h de finalización del experimento. Sin embargo, la batería de 10 ppt presentó diferencias significativas de la concentración de glucógeno hasta las 12 h postprandial y se mantuvo de manera similar a la batería de 0 ppt hasta las 20 h. En contraste, con los efectos generalizados de las baterías 0 ppt y 10 ppt donde se observan diferencias significativas de la concentración de glucógeno en el tiempo; a 20 ppt de salinidad, aunque se observa una ligera tendencia a incrementar la concentración de glucógeno, no hay diferencias significativas en el tiempo. Ello sugiere, que la tilapia roja cultivada a 20 ppt de salinidad presenta niveles de estrés superiores a las cultivadas a 0 y 10 ppt, coincidiendo con estudios donde reportan incremento de los ionocitos a nivel de las células branquiales durante procesos de aclimatación en agua salina (Jeerawas et al., 2016). Por consiguiente, considerando la respuesta fisiológica de los peces ante la variación de la concentración salina, podemos hipotetizar que hay una activación del eje hipotálamo-pituitaria-cromafín (HPC) que está propiciando la liberación de catecolaminas (CAs), con la subsecuente degradación del glucógeno hepático (Aguilar, 2010; Conde-Sieria, 2012), permitiendo la liberación de glucosa al torrente sanguíneo para garantizar el funcionamiento osmorregulatorio ante un estrés agudo. Es más, en la batería de 20 ppt, debido a que nuestros organismos tras su aclimatación se mantuvieron en esa concentración salina por un período de 15 días, hasta la toma de



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

muestras, el estrés observado podría también estar siendo mediado por altos niveles de cortisol debido a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-interrenal (HPI) (Flik et al., 2006; Gesto et al., 2014).

Se ha observado que tilapia *O. mossambicus* y *O. aureus*, que habitan en el lago Salton del Sur este de California, toleran hasta 65 ppt de salinidad a una temperatura de 25°C, con un mínimo efecto sobre su actividad osmorregulatoria. Asimismo, que la reducción de la temperatura a 15 °C o el incremento a 35°C reduce grandemente la tolerancia a la salinidad de estas especies (Sardella et al., 2007). Por lo tanto, independientemente de la tolerancia a la salinidad de la tilapia, nuestros resultados sugieren que la no acumulación efectiva de glucógeno hepático en los peces ubicados a 20 ppt, tras la ingesta de alimento, está siendo mediada por la activación de los ejes HPC y HPI que podrían mantener una ligera activación de la GPasa debido a la liberación de CAs y cortisol, ocasionando estrés en los peces (Flik et al., 2006; Aziza y Khaldi, 2010).

Bajo este contexto, al evaluar la concentración de glucógeno hepático por tiempo de muestreo (0h, 4h, 8h, 12h, 16h y 20h) en las tres baterías experimentales (0ppt, 10ppt y 20ppt de salinidad), de manera general, nuestros resultados muestran valores inferiores de los niveles de glucógeno hepático en los peces con tratamiento de 20 ppt con respecto a los peces tratados con 0 y 10 ppt de salinidad, coincidiendo con lo reportado en otros estudios donde indican que incrementos de la salinidad activan mecanismos osmorregulatorios directos a nivel de las células branquiales (Jeerawas et al., 2016; Güner et al., 2005) e indirectos provenientes de la activación de los ejes HPC e HPI (Conde, 2012; Azpelata, 2013; Gesto et al., 2014; Otero, 2017).

No obstante, cabe señalar, que los peces usados en nuestro experimento permanecieron a una temperatura de 30 °C-32 °C, factor que



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

podría estar generando algún efecto sobre el metabolismo del glucógeno debido a que valores inferiores o mayores de 25 °C de temperatura han demostrado tener un efecto dramático en la tolerancia a la salinidad en los peces (Sardella et al., 2016).

6.3 Cerebro

El cerebro de los peces como tejido consumidor y almacenador de glucosa.

El cerebro de los peces tiene las mayores tasas de utilización de glucosa por unidad de peso con valores tan altos como los descritos en ratas (Washburn et al., 1992). La principal diferencia a nivel del metabolismo de la glucosa entre los peces y los mamíferos es la enorme tolerancia de los peces a la hipoglucemia (Mommssen y Plisetskaya, 1991). Sin embargo, cuando un pez activo que contiene niveles relativamente bajos de glucógeno en el cerebro, se encuentra en estado hipoglucémico; por consiguiente, convulsiona y muere de un modo similar a lo que ocurre en mamíferos (Leibson, 1973). Para explicar este extraordinario fenómeno que ocurre en los peces, varios autores señalan que el carecer de efectos perjudiciales debido a la hipoglucemia se debe principalmente a su dependencia del metabolismo de lípidos y proteínas, y que los requerimientos de glucosa en los tejidos como el cerebro podrían ser excepcionalmente pequeños. Sin embargo, una importancia reducida del metabolismo de la glucosa en el cerebro entra en conflicto con los hallazgos de varios estudios que muestran cantidades importantes de glucógeno en el tejido cerebral, no solo en teleósteos sino también en ciclóstomos (Schmidt y Wegener, 1988; Foster et al., 1993), que ciertamente son mucho más altos que los descritos en otros vertebrados.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

En este sentido, cabe mencionar que la actividad de la glucosa 6-fosfatasa (G6Pasa) ha sido descrita en el cerebro de varias especies de peces (Rovainen, 1970; Polakof et al., 2008a). Por tanto, es posible que las reservas de carbohidratos en el cerebro le permitan a este tejido ser relativamente autónomo del aporte de glucosa sanguínea, especialmente durante alteraciones metabólicas de duración limitada.

En nuestro estudio hay prevalencia de dos agentes estresores (salinidad-ingesta) de los cuales la salinidad podría ser responsable de la activación de los ejes HPI-HPC que pueden estar mediando la depleción del glucógeno hepático para suplir la demanda energética de los procesos osmorregulatorios, a través de la liberación de glucosa al torrente sanguíneo (Flores, 2002; Barandica y Tort, 2008; Azpelata, 2013). Estudio realizado por investigadores de nuestro laboratorio, en este mismo experimento, muestran un incremento significativo de la concentración de glucosa plasmática en el grupo de peces control de la batería 20 ppt de salinidad, con respecto a los grupos controles de las baterías 0 ppt y 10 ppt de salinidad (datos no publicados). De igual forma, los resultados obtenidos en nuestro experimento muestran que los peces ayunados, presentes en ambientes de 20 ppt de salinidad presentan concentración de glucógeno cerebral superior a los observados en el cerebro de los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt. Por consiguiente, es posible que la prevalencia de altos valores de glucosa sanguínea debido a la activación de los ejes HPI-HPC podría estar supliendo las necesidades energéticas cerebrales (Conde, 2012; Polakof, 2007c; Aguilar et al., 2010; Aguilar, 2011) en los peces ubicados en 20 ppt de salinidad, contribuyendo con la estabilidad de la concentración del glucógeno. En oposición a lo descrito anteriormente, los niveles de glucógeno cerebral, en los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt, son menores significativamente que los ubicados en 20 ppt de salinidad, sugiriendo que los bajos valores



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

de glucemia podrían propiciar la respuesta de consumo de glucógeno local, de manera similar a como ocurre en salmónidos hipoglucémicos inducidos por tratamiento con insulina o privación de alimento. En esta especie, los niveles de glucógeno disminuyen en el cerebro, apoyado por los cambios observados en el ratio de actividad de las enzimas GSasa/GPasa (Soengas et al., 1996, 1998b; Polakof et al., 2007a, 2008a). Por ello, bajo condiciones de hipoglucemia severa o de privación de alimento durante largos períodos, la glucosa almacenada en el cerebro suple las necesidades del mismo. Este fenómeno también ha sido descrito en mamíferos, donde el glucógeno cerebral proporciona combustible durante períodos de tiempo en que los niveles de glucosa plasmática disminuyen (Choi et al., 2003).

Por otro lado, tras la ingesta de alimento, se observa una tendencia creciente de la concentración de glucógeno cerebral, en las tres baterías experimentales (0 ppt, 10 ppt, 20 ppt), de manera similar a lo observado por otros investigadores (Conde-Sieria, 2012). Sin embargo, en los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt los niveles de glucógeno presentan tendencia decreciente pasadas las 16 horas, mientras que los ubicados en 20 ppt inician decrecimiento del glucógeno pasadas las 12 horas postprandial, indicando que el incremento glucémico propiciado por la ingesta de alimento (datos no publicados por el laboratorio) es detectado por las áreas glucosensoras cerebrales e inducen la actividad GSasa (Soengas et al., 1996, 1998b; Polakof et al., 2007a, 2008a) para el almacenamiento de glucógeno. No obstante, la disminución de los niveles de glucosa plasmática a 20 ppt, en este experimento (datos no publicados) y la pobre acumulación de glucógeno hepático podrían ser responsables del decrecimiento de los niveles de glucógeno pasadas 12 postprandial. Sin embargo, de manera general, en las tres baterías a las 20 horas



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

postprandial los niveles de glucógeno retornan a niveles similares al grupo control.

Hemos demostrado que la concentración salina de 20 ppt en el ambiente acuático de tilapia roja *Oreochromis spp.*, induce cambios en los parámetros implicados con la glucosensibilidad en hígado y cerebro, similares a lo observado por Chang et al. (2007) en hígado y branquias de *O. mosambicus* bajo condiciones de aclimatación de agua dulce a agua con 25 ppt de salinidad. Lo cual se corrobora con la correlación significativa del metabolismo del glucógeno hepático (R: 0.85; P=0.03) y cerebral (R: 0.994; P=0.00005) tras la ingesta de alimento, entre las concentraciones salinas de 0 y 10 ppt, encontrada en nuestro estudio.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

7. CONCLUSIONES

1. Tras la ingesta de alimento, se observaron diferencias significativas de la concentración de glucógeno hepático, a las 4 horas postprandial,



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

manteniendo esos valores hasta las 20 horas, en concentraciones de 0 ppt y 10 ppt. No obstante, en concentración salina de 20 ppt, aunque se observó una ligera tendencia a incrementar la concentración de glucógeno hepático, no hay diferencias significativas en el tiempo con respecto al grupo control.

2. Se observó incremento significativo de la concentración de glucógeno cerebral en 0 ppt y 10 ppt a las 16 horas postprandial y en 20 ppt de salinidad a las 12 horas. Posteriormente, decrece significativamente a nivel del grupo control.

3. De manera general, la concentración de glucógeno hepático presenta similar comportamiento en las concentraciones salinas de 0 ppt y 10 ppt, desde las 0 horas hasta las 20 horas de final del experimento. En contraste, a concentración salina de 20 ppt los niveles de glucógeno hepático presentan niveles inferiores a los observados en 0 ppt y 10 ppt de salinidad, en los mismos períodos de tiempo.

4. Entre las cero y doce horas postprandial, de manera general, los peces sometidos a concentración salina de 20 ppt presentaron incremento significativo de las concentraciones de glucógeno cerebral con respecto a los peces ubicados en 0 ppt y 10 ppt de salinidad. No obstante, a las 16 y 20 horas las concentraciones de glucógeno cerebral en 20 ppt fueron significativamente menores que las observadas en 0 y 10 ppt de salinidad.

5. La fluctuación de los niveles glucógeno hepático y cerebral, en el tiempo, presentan correlación significativa entre las salinidades de 0 ppt y 10 ppt ($R: 0.85$; $P=0.03$) y ($R: 0.994$; $P=0.00005$), respectivamente.

En resumen, los resultados presentados en este trabajo de fin de master proporcionan evidencias del efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral, así como su respuesta tras la ingesta de alimento. Los bajos niveles de glucógeno hepático en 20 ppt de salinidad, sugieren la probable activación de los ejes HPI y HPC para el mantenimiento de la osmorregulación. Por consiguiente, las tilapias cultivadas en 20 ppt podrían presentar niveles de estrés mayores a las cultivadas en 0 ppt y 10 ppt de salinidad.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

8. RECOMENDACIONES



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

1. Realizar investigaciones que permitan evaluar el efecto de los diferentes agentes estresantes, y comprender como se da la activación de los ejes fisiológicos de respuestas en los organismos en cultivo, principalmente en aquellas especies de importancia en la acuicultura de Nicaragua.

2. Divulgar los resultados denotando la importancia de trabajos investigativos de este tipo con un lenguaje coloquial, para que pueda ser fácilmente comprendido por los pescadores que se dedican a las actividades de acuicultura.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abu, H., Mostofa, K., y Graham, C. (2005). Salinity tolerance in superior genotypes of tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus* and their hybrids. *Aquaculture*, 247, 189-201.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Aguilar, A., Conde-Sieira, M., Polakof, S., Míguez, J., y Soengas, J. (2010). Central leptin treatment modulates brain glucosensing function and peripheral energy metabolism of rainbow trout. *Peptides*, 31, 1044-54.
- Aguilar, A. (2011). Papel de la leptina en la relación entre los sistemas glucosensores centrales y el control de la ingesta de alimento en la trucha arco iris como modelo de pez teleosteo. (Tesis doctoral). Universidad de Vigo, Vigo, España.
- Alsop, D., Vijayan, M. (2009). Molecular programming of the corticosteroid stress axis during zebrafish development. *Comp. Biochem. Physiol. A.*, (153), 49-54.
- Álvarez, C., Moyano, F., Civera, R., Carrasco, V., Ortiz, J., y Dumas, S. (2008). Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*. 1. Biochemical analysis. *Fish. Physiol. Biochem.*, 34, 373-384.
- Atencio, V., Hernández, J. y Pardo, S. (2008). Descripción morfológica del tubo digestivo de juveniles de Rubio *Salminus affinis* (Pisces: Characidae). *Acta. biol. Colomb.*, 13(3), 99-112.
- Aziza, T., y Khaldi, E. (2010). Effect of different stress factors on some physiological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Elsevier*, 17 (3), 241-246.
- Azpelata, N. (2013). Melatonina en la regulación de las respuestas al estrés en teleosteos: Efectos comportamentales y acciones en el eje hipotálamo-hipófisis-interrenal. (Tesis doctoral). Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Barandica, C., y Tort, B. (2008). Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. *Revista Acad. Colomb. Ci. Exact.*, 32(123), 267-284.
- Barton, B. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integ. and Comp. Biol.*, 42, 517-525.
- Bender, D. (2010). Carbohidratos importantes desde el punto de vista fisiológico. En R, Murray; P, Kennely; V, Rodwell., y P, Weil (Eds.), *Bioquímica ilustrada* (113-120). Distrito Federal, México: McGrawHill Interamericana Editores.
- Bentley, P. (2002). Endocrines and osmoregulation. A comparative account in vertebrates. En: S, Bradshaw., W, Burggren., H, Heller., S, Ishii., H, Langer., G, Neuweiler., and D, Randall. (Eds.). *Zoophysiology* (187-231), Berlín: Springer.
- Bernier, N., Flik, G., Klaren, P. (2009). Regulation and contribution of the corticotropic, melanotropic and thyrotropic axes to the stress response



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- in fishes. En: N, Bernier., G, van der Kraak., A, Farrell., C, Brauner. (Eds.). Fish neuroendocrinology Vol. 28. (236-311). Academic Press.
- Bezerra, R., Lins, E., Alencar, R., Paiva, P., Chaves, M., Coelho, L., Carvalho, L. (2005). Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Process Biochemistry*, 40(5), 1829-1834. Doi: [10.1016/j.procbio.2004.06.066](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.066)
- Blanco, A. (2006). Química biológica. Recuperado de: <http://www.medicinaunlam.xyz/2017/04/quimica-biologica-de-antonio-blanco-pdf.html>
- Blasco, J., Fernández, B., Marimón, I., y Requena, A. (1996). Plasma glucose kinetics and tissue uptake in Brown trout *in vivo*: effect of an intravascular glucose load. *J. Comp. Physiol. B.*, 165, 534-541.
- Blasco, J., Marimón, I., Viaplana, I., y Fernández, J. (2001). Fate of plasma glucose in tissues of brown trout *in vivo*: effects of fasting and glucose loading. *Fish. Physiol. Biochem.*, 24, 247-258.
- Brown, A., y Ransom, B. (2007). Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia*, 55, 1263-1271.
- Bury N., Sturm, A. (2007). Evolution of the corticosteroid receptor signaling pathway in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 153, 47-56.
- Caseras, A., Metón, I., Fernández, F., y Baanante, I. (2000). Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in liver of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Biochim. Biophys. Acta.*, 1493, 135- 141.
- Caseras, A., Metón, I., Vives, C., Egea, M., Fernández, F., y Baanante, I. (2002). Nutritional regulation of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br. J. Nutr.*, 88, 607- 614.
- Castillo, Y., y Domínguez, G. (2018). Efectos del estrés sobre el metabolismo energético de glucosa en sangre e hígado y músculo de tilapias (*Oreochromis niloticus*), Finca Quinta Yolanda, agosto-diciembre, 2016. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León, León, Nicaragua.
- Castro, R., Álvarez, A., Machado, E., Mendoza, M., Gómez, R., y García, P. (2011). Caracterización de una quitinasa extracelular producida por *Serratia* sp. Biomi-363706 usando quitina coloidal como sustrato. *Rev. Soc. Quím. Perú.*, 77 (2), 101-108.
- Campos, P., Snamartí, N., Torres, D., Mingo, B., Fernández, M., Boixaderas, N., Elena de la Rubia, M^a., Rodríguez, R., y Pintó, R. (2002). Biología Volumen 2. Recuperado de: <https://books.google.com.ni/books?id=QI0tHB80XqIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Capilla, E., Médale, F., Navarro, I., Panserat, S., Vachot, C., Kaushik, S., y Gutiérrez, J. (2003). Muscle insulin binding and plasma levels in



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

relation to liver glucokinase activity, glucose metabolism and dietary carbohydrates in rainbow trout. *Regul. Pept*, 110, 123-132.

- Capilla, E., Díaz, M., Albalat, A., Navarro, I., Pessin, J., Keller, K., Planas, J. (2004). Functional characterization of an insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) from fish adipose tissue. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 287, E348-E357.
- Carnevali, O., Mosconi, G., Cardinali, M., Meiri, I., y Polzonetti, A. (2001). Molecular components related to egg viability in the Gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Mol. Rep.Dev.*, 58, 330-335.
- Chang, J., Wu, S., Tseng, Y., Lee, Y., Baba, O., y Hwang, P. (2007). Regulation of glycogen metabolism in gills and liver of the euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acclimation to seawater. *J. Exp. Biol.*, 210, 3494-3504. Doi:10.1242/jeb.007146
- Chan, O., y Sherwin, R. (2012). Hypothalamic regulation of glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*. 61, 564-565. Doi:10.2337/db11-1846
- Chaparro, D y Rosas, D. (2006). Aislamiento y evaluación de la actividad enzimática de hongos descomponedores de la madera en la reserva natural La montaña del ocaso, Quimbaya-Quindío. Proyecto previo a la obtención del título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Choi, I., Seaquist, E., y Gruetter, R. (2003). Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism *in vivo*. *J. Neurosci. Res.*, 72, 25-32.
- Chrousos, G. (1998). Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851, 311- 335.
- Clements, K., Raubenheimer, D., y Howard, J. (2009). Nutritional ecology of marine herbivorous fishes: ten years on. *Functional Ecology*, 23, 79-92.
- Colombe, L., Fostier, A., Bury, N., Pakdel, F. y 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.
- Conde-Sieira, M., Aguilar, A., López, m., Míguez, J., y Soengas, J. (2010). Stress alters food intake and glucosensing response in hypothalamus, J.L. hindbrain, liver, and Brockmann bodies of rainbow trout. *Physiol. Behav.*, 101, 483-493.
- Conde-Siera, M. (2012). Efectos del estrés sobre la ingesta de alimento y su regulación por mecanismos neuroendocrinos y metabólicos en peces teleósteos. (Tesis doctoral). Universidad de Vigo, Vigo, España.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Conde-Sieira, M., Alvarez, R., López, M., Míguez, J., Flik, G., y Soengas, J. (2013). ACTH-stimulated cortisol release from head kidney of rainbow trout is modulated by glucose concentration. *J. Exp. Biol.*, 216, 554-567.
- Conde-Siera, M., y Soengas, J. (2017). Nutrient Sensing Systems in Fish: Impact on Food Intake Regulation and Energy Homeostasis. *Front. Neurosci.*, 10, 603. Doi: 10.3389/fnins.2016.00603
- Cornejo, G. (2017). Respuesta morfológica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis sp.*) alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia.
- Correa, S., Fernandes, M., Iseki, K., y Negrão, J. (2003). Effect of the establishment of dominance relationships on cortisol and other metabolic parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 36, 1725-1731.
- Costas, M., Radünz, J., Lazzari, R., Veiverberg, C., Sutili, F., y Loro, V. (2011). Enzimas digestivas de juveniles de carpa alimentados con forraje y ración. *Arch. Zootec.*, 60(231). Doi: <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922011000300045>
- Cowe, C., y Walton, M. (1989). Intermediary metabolism. In J. Halver. (Ed.), *Fish nutrition* (259-329). New York: Academic Press.
- Cuvier, A. y Kestemont, P. (2002). Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish. Physiol. Biochem.*, 24, 279-285.
- Darias, M., Murray, H., Gallant, J., Douglas, S., Yúfera, M., y Martínez, G. (2017). Ontogeny of pepsinogen and gastric proton pump expression in red porgy (*Pagrus pagrus*): Determination of stomach functionality. *Aquacult.*, 270, 369-378.
- De Pedro N., Delgado M., Pinillos, M. y Alonso, M. (1998). α 1-adrenergic and dopaminergic receptors are involved in the anorectic effect of corticotropin releasing factor in goldfish. *Life Sciences*, 62, 1801-1808.
- Dominguez, M., Takemura, A., Tsuchiya, M., y Nakamura, S. (2004). Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 241, 491-500.
- Dos Santos, M., Arantes, F., Santiago, K y Dos Santos, J. (2015). Morphological characteristics of the digestive tract of *Schizodon kneri* (Steindachner, 1875), (Characiformes: Anostomidae): An anatomical, histological and histochemical study. *An. Acad. Bras. Cienc.*, 87(2), 867-878. Doi: 10.1590/0001-3765201520140230



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Drai, P., Albertini-Berhaut, J., Lafaurie, M., Sudaka, P., y Giudicelli, J. (1990). Simultaneous preparation of basolateral and brush-border membrane vesicles from sea bass intestinal epithelium. *Biochim. Biophys.*, 1022, 251-259.
- Enes, P., Panserat, S, Kaushik, S., y Oliva, A. (2006). Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Comp. Biochem. Physiol.*, 143B, 89-86.
- Evans, H. y Claiborne, J. (2005). The physiology of fishes, third Edition. Boca Raton, Florida: Taylo & Francis group.
- FAO. (2012). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. (SOFIA). Roma, 213. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i2727s.pdf>
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, 224. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- Flik, G., Klaren, P, Van den Burg, E., Metz, J. y Huising, M. (2006). CRF and stress in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 146, 36-44.
- Flores, C. (2002). Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. *Revista de ictiología*, 10 (1/2), 57-78.
- Foster, G.D., Youson, J.H. y Moon, T.W. (1993). Carbohydrate metabolism in the brain of the adult lamprey. *J. Exp. Zool.*, 267, 27-32.
- Furness, J. (2012). The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 9, 286-294. Doi:10.1038/nrgastro.2012.32
- Furutani, T., Masumoto, T., y Fukada, H. (2012). Response of cholecystokinin and digestive enzyme mRNA levels to varios Feed ingredients in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fish. Sci.*, 78, 1075-1082.
- García, M., y Sanz A. (2009). Los hidratos de carbono en la alimentación de los peces. En F. Sanz. (Ed.). *La nutrición y alimentación en piscicultura* (275-326). Madrid, España: Discript preimpresión, S. L.
- Garduño, M., Hernández, M., Soto, F. y Sánchez, A. (2016). Evaluación de tres alimentos balaneados en la engorda de juveniles de pargo lunarejo *Lujanus guttatus* (Pisces: Luthanidae) en Nayarit, México. *Hidrobiológica*, 26(1), 87-92.
- Gesto, M., Soengas, J., Míguez, J. (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) treatment. *Aquatic. Toxicol.*, 86, 341- 351.
- Gesto M., Conde-Sieira M., López-Patiño M., Soengas J., Míguez, J. (2010). Métodos y parámetros fisiológicos de evaluación de estrés/bienestar



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

en especies de peces en cultivo. In Métodos y técnicas de investigación marina. Tecnos. Sección II.

- Gesto, M., López, M., Hernández, J., Soengas, J. y Míguez, J. (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., Otero, C., López, M., Míguez, J., Soengas, J., y Conde-Sieira, M. (2014). Is plasma cortisol response to stress in rainbow trout regulated by catecholamine-induced hyperglycemia?. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 205, 207-217.
- German, D., Horn, H., Gawlicka, A. (2004). Digestive enzyme activities in herbivorous and carnivorous prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae): ontogenetic, dietary, and phylogenetic effects. *Physiol. Biochem. Zoo.*, 77(5), 789-804. Doi: 10.1086/422228
- González, J., Reimann, F., Burdakov, D. (2009). Dissociation between sensing and metabolism of glucose in sugar sensing neurones. *J. Physiol.*, 587, 41-48.
- Greenberg, N., Carr, J., Summers, C. (2002). Causes and consequences of stress. *Integr. Comp. Biol.*, 42, 508-516.
- Güner, Y., Özden, O., Çagırgan, H., Altunok, M., y Kizak, V. (2005). Effects of salinity on the osmoregulatory functions of the gills in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 1259-1266.
- Hall, J., Short, C., Driedzic, W. (2006). Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose. *J. Exp. Biol.*, 209, 4490-4502.
- Hani, Y., Marchand, A., Turies, C., Kerambrun, E., Palluel, O., Bado, A., Beaudouin, R., Porcher, J., Geffard, A., y Dedourge, O. (2018). Digestive enzymes and gut morphometric parameters of threespine stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): Influence of body size and temperatura. *Plos One*, 13(4), 1-21. Doi: 10.1371/journal.pone.0194932
- Harmon, J., Eilertson, C., Sheridan, M., Plisetskaya, E. (1991). Insulin suppression is associated with hypersomatostatinemia and hyperglucagonemia in glucose-injected trout. *Am. J. Physiol*, 261, R609-R613.
- Hemre, G., Mommsen, T., y Krogdahl, A. (2002). Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture. Nutr.*, 8, 175-194.
- Herdt, T. (2009). Fisiología y metabolismo gastrointestinal. En Cunningham, J., y Klein, B. (Eds.), Fisiología Veterinaria (300-389). Barcelona, España: Elseiver.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

- Hill, R., Wyse, G., y Anderson, M. (2006). Fisiología Animal. Recuperado de: <https://books.google.com.ni/books?id=HZaC45m9IMMC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Hummel, J., Südehum, K., Streich, W., y Clauss, M. (2006) Forage fermentation patterns and their implications for herbivore ingesta retention times. *Functional Ecology*, 20, 989–1002.
- Izquierdo, M., Socorro, J., Arantzamendi, L., y Hernández, C. (2000). Recent advances in nutrition in fish larvae. *Fish. Physiol. Biochem.*, 22, 97-107.
- Jeerawat, J., Zhao, J., Zhao, L.; Zhuang, Q., Guo, J; Larbi, Ch. (2016). Acclimation responses of gill ionocytes of red tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) to water salinity and alkalinity. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(1), 524-541.
- Kamal, A., y Mair, G. (2005). Salinity tolerance in superior genotypes of tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus* and their hybrids. *Aquaculture*, 247(1-4), 189-201.
- Kamalam, B., Medale, F., Kaushik, S., Polakof, S., Skiba, S., y Panserat, S. (2012). Regulation of metabolism by dietary carbohydrates in two lines of rainbow trout divergently selected for muscle fat content. *J. Exp. Biol.*, 215, 2567-2578. Doi:10.1242/jeb.070581
- Karakach, T., Huenupi, E., Soo, E., Walter, J., Afonso, L. (2009). H- 1-NMR and mass spectrometric characterization of the metabolic response of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) to long-term handling stress. *Metabolomics*, 5, 123-137.
- Karp, G. (2009). Biología celular y molecular. Conceptos y experimentos. Quinta edición. Distrito Federal, México: Mcgraw-Hill Interamericana. ISBN 13: 978-970-10-6925-7.
- Kaushik, S. (2001). Carbohydrate nutrition: importance and limits of carbohydrate supplies. En Guillaumw, S., Kaushik, S., Bergot, P., y Métailler, R. (Eds). Nutrition and feeding in fish and crustaceans (131-144). Chichester: Springer.
- Keppler, D., y Decker, K. (1974). Glycogen determination with amyloglucosidase. In: Bergmeyer, H, (Ed.). Methods of enzymatic analysis (1127–31). New York: Academic Press.
- Kirchner, S., Seixas, P., Kaushik, S., y Panserat, S. (2005). Effects of low protein intake on extra-hepatic gluconeogenic enzyme expression and peripheral glucose phosphorylation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol*, 140B, 333-340.
- Kulczykowska, E., y Sánchez, F. (2010). Neurohormonal regulation of feed intake and response to nutrients in fish: aspects of feeding rhythm and stress. *Aquaculture Research*, 41, 654-667.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Kvále, A., Nordgreen, A., Tonheim, S., y Hamre, K. (2007). The problem of meeting dietary protein requirements in intensive aquaculture production of marine fish larvae with emphasis on Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture Nutrition*, 13, 170-185.
- Lawson, E., y Anetekhai, M. (2011). Salinity Tolerance and Preference of Hatchery Reared Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linneaus 1758). *Asian J. Agric. Sci.*, 3(2), 104-110.
- Lazo, J., Dinis, M., Holt, G., Faulk, C., y Arnold, C. (2000). Co-feeding microparticulate diets with algae: towards eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 188, 339-351.
- Lazo, J., Darias, M., y Gisbert, E. (2011). Ontogeny of the digestive tract. En Holt, G. Fish larval nutrition. Oxford, United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Leibson, L. (1973). Features of the metabolism and its endocrine regulation in fish with different motor activities. *Evol. Physiol. Biochem.*, 8, 248-253.
- Liddle, R. (1997). Cholecystokinin cells. *Ann. Rev. Physiol.*, 59, 221-242.
- Lin, Y., Tsai, S., Lin, H., Hsiao, C., y Wu, S. (2011). Changes of glycogen metabolism in the gills and hepatic tissue of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during short-term Cd exposure. *Comp. Biochem. And Physiol. C.*, 154, 296-304.
- Logato, P. (1995) Anatomía-histología funcional do aparelho digestório do Pacú, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1988 (Characiformes, Characidae, Myelinae) (Tesis doctoral). Universidade Federal de Viçosa, Brazil.
- Lucero, Y. (2016). Estimulación temprana de la maduración digestiva en larvas de *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). (Tesis de maestría). Centro de Investigaciones del NorEste. La paz, Baja California Sur.
- Martins, C., Conceição, L. y Schrama, J. (2011). Feeding behavior and stress response explain individual differences in feed efficiency in juveniles of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 312, 192-197.
- Marty, N., Dallaporta, M., y Thorens, B. (2007). Brain glucose sensing, counterregulation, and energy homeostasis. *Physiology*, 22, 241-251.
- Metón, I., Mediavilla, D., Caseras, A., Cantó, E., Fernández, F., y Baanante, I. (1999). Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Br. J. Nutr.*, 82, 223-232.
- Metón, I., Caseras, A., Cantó, E., Fernández, F., y Baanante, I. (2004). Molecular cloning of hepatic glucose-6-phosphatase catalytic subunit from



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

gilthead sea bream (*Sparus aurata*): response of its mRNA levels and glucokinase expression to refeeding and diet composition. *Comp. Biochem. Physiol.*, 138B, 145-153.

- Miró, M. (2011). Relación entre el transporte de glucosa y lactato en células del sistema nervioso. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Moguel, I. (2015). Fisiología digestiva durante el desarrollo larval del pargo Lunarejo *Lutjanus guttatus*. (Tesis doctoral). Instituto Politécnico Nacional, Centro interdisciplinario de ciencias marinas. La Paz, B.C.S., México.
- Molina, G., y Ramos, M. (2008). Adaptación progresiva a la salinidad de alevines masculinizados de "tilapia del Nilo" (*Oreochromis niloticus*), bajo condiciones de precria intensiva. (Tesis de pregrado). Universidad de el Salvador, San Vicente, El Salvador.
- Mommsen, T., y Plisetskaya, E. (1991). Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation. *Rev. Aquat. Sci.*, 4, 225-259.
- Mommsen, T., Vijayan, M., Moon, T. (1999). Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fisher.*, 9, 211-268.
- Moon, T., y Foster, G. (1995). Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influence. In P, Hochachka y T, Mommsen (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of fishes* (65-100). Amsterdam: Elsevier.
- Moon, T. (2001). Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comp. Biochem. Physiol. A.*, 129, 243-249.
- Müller, W. (2008). Bioquímica. Fundamentos para la Medicina y Ciencias de la Vida. Recuperado de: <https://books.google.com.ni/books?id=X2YVG6Fzp1UC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Moutou, K., Panagiotaki, P., y Mamuris, K. (2004). Effects of salinity on digestive protease activity in the euryhaline sparid *Sparus aurata* L.: a preliminary study. *Aquacult. Res.*, 35(9), 912-914.
- Muñoz, J. (2011). Melatonina en el tracto gastrointestinal de la trucha arco iris: regulación y papel fisiológico. (Tesis doctoral). Universidad de Vigo. España.
- Navarro, I., y Gutierrez, J. (1995). Fasting and starvation. In P. Hochachka and T. Mommsen. (Eds.), *Metabolic biochemistry*. (394-434). Amsterdam: Elsevier.
- Navarro, I., Rojas, P., Capilla, E., Albalat, A., Castillo, J., Montserrat, N., Codina, M., y Gutiérrez, J. (2002). Insights into insulin and glucagón responses in fish. *Fish. Physiol. Biochem.*, 27, 205-216.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Nelson L., y Sheridan M. (2006). Gastroenteropancreatic hormones and metabolism in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 148, 116-124.
- Novoa, M., Capilla, E., Rojas, P., Baro, J., Gutiérrez, J., y Navarro, I. (2004). Glucagon and insulin response to dietary carbohydrate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 139, 48-54.
- Olaya, C., y Ovalle, C., y Gómez, E., y Rodríguez, D., y Caldas, M., y Hurtado, H. (2007). Histología y morfometría del sistema digestivo del Silúrido bagre tigrilo (*Pimelodus pictus*). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 54(2), 311-323.
- Olsson, C., Holmberg, A., S., Holmgren (2008) Development of enteric and vagal innervation of the zebrafish (*Danio rerio*) gut. *J. Comp. Neurol.*, 508, 756-770.
- Otero, C., Librán, M., Velasco, C., Álvarez, R., López, M., Míguez, J., y Soengas, L. (2015). Response of lactate metabolism in brain glucosensing areas of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to changes in glucose levels. *J. Comp. Physiol. B*, 185, 869. Doi: 10.1007/s00360-015-0932-6
- Otero, C. (2017). Avances en el estudio de los sistemas glucosensores en trucha arco iris y su implicación en el control de la ingesta. (Tesis doctoral). Universidad de Vigo-España.
- Overli, O., Winbweg, S., Pottinger, T. (2005). Behavioural and neuroendocrine correlates of selection for stress responsiveness in rainbow trout. A review. *Integr. Comp. Biol.*, 45, 463-474.
- Pankhurst, N., Van der Kraak, G. (1997). Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Iwama, G., Pickering, A., Sumpter, J., Schreck, C. (Eds.), *Fish Stress and Health in Aquaculture*, 1st edn (73-93). Cambridge University Press, Cambridge.
- Panserat, S., Médale, F., y Blin, C. (2000a). Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream and common carp. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 278, R1164-R1170.
- Panserat, S., Médale, F., Bréque, J., Plagnes-Juan, E., Kaushik, S. (2000b). Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on glucose-6-phosphatase expression in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Nutr. Biochem.*, 11, 22-29.
- Pellerin, L., y Magistretti, P. (2004). Neuroenergetics: calling upon astrocytes to satisfy hungry neurons. *Neuro-scientist*, 10, 53-62.
- Pepels, P., Pesman, G., Korsten, H., Wendelaar-Bonga, S. y Balm, P. (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.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Pepels, P., Van Helvoort, H., Wendelaar-Bonga, S., Balm, P. (2004) Corticotropin-releasing hormone in the teleost stress response: rapid appearance of the peptide in plasma of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Int. J. Endocrinol.*, 180, 425-438.
- Pfeiffer-Guglielmi, B., Fleckenstein, B., Jung, G., y Hamprecht, B. (2003). Immunocytochemical localization of glycogen phosphorylase isozymes in rat nervous tissues by using isozyme-specific antibodies. *J. Neurochem.*, 85, 73-81.
- Pickering, A., y Pottinger, T. (1987). Poor water quality suppresses the cortisol response of salmonid fish to handling and confinement. *J. Fish. Biol.*, 30, 363-374.
- Pineda, H., Zuluaga, C., y Vertel, D. (2012). Evaluación de la morfometría y del hábito alimenticio en tilapia roja *Oreochromis* sp. y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* var. *chitralada* bajo diferentes condiciones de manejo en dos granjas piscícolas del occidente Antioqueño. *Revista Politecnica*, 14(8), 97-104.
- Perry, S., Reid, S., Gilmour, K., Bojink, C., Lopes, J., Milsom, W. y Rantin, F. (2004). A comparison of adrenergic stress responses in three tropical teleosts exposed to acute hypoxia. *Am. J. Physiol. Regul. Comp. Physiol.*, 287, 188-197.
- Peña, R. (2005). Estudio de la función digestiva en larvas de la cabrilla arenosa *Paralabrax maculatofasciatus*: aspectos alimenticios y sus aplicaciones prácticas. (Tesis Doctoral). CICIMAR.IPN. México.
- Plisetskaya, E., y Mommsen, T. (1996). Glucagon and glucagon-like peptides in fishes. *Int. Rev. Cytol.*, 168, 187-257.
- Polakof, S., Arjona F., Sangiao, S., Martín del Río, M., Mancera J., y Soengas, J. (2006). Food deprivation alters osmoregulatory and metabolic responses to salinity acclimation in gilthead sea bream *Sparus auratus*. *J. Comp. Physiol. B.*, 176 (5): 441-52.
- Polakof, S., Míguez, J., y Soengas, J. (2007a). In vitro evidences for glucosensing capacity and mechanisms in hypothalamus, hindbrain, and Brockmann bodies of rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 293, R1410-R1420.
- Polakof, S., Míguez, J., y Soengas, J. (2007b). Changes in food intake and glucosensing function of hypothalamus and hindbrain in rainbow trout subject to hyperglycemic or hypoglycemic conditions. *J. Comp. Physiol. A.*, 194, 829-839.
- Polakof, S., Ceinos, R., Fernández-Duran, B., Míguez, J., y Soengas, J. (2007c). Daily changes in parameters of energy metabolism in brain of rainbow trout: dependence on feeding. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146A., 265-273.



*Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*).*

- Polakof, S., Míguez, J.M., Moon, T.W. y Soengas, J.L. (2007d). Evidence for the presence of a glucosensor in hypothalamus, hindbrain, and Brockmann bodies of rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 292, R1657–R1666.
- Polakof, S. (2008a). Mecanismo glucosensores en cerebro y cuerpos de Brockmann de la trucha arco iris como modelo de pez teleosteo: implicaciones fisiológicas. (Tesis doctoral). Universidad de Vigo, Vigo, España.
- Polakof, S., y Soengas, J. (2008b). Involvement of lactate in glucose metabolism and glucosensing function in selected tissues of rainbow trout. *J. Exp. Biol.*, 211, 1075–1086. Doi:10.1242/jeb.014050
- Polakof, S., Alvarez, R., y Soengas, J. (2010). Gut glucose metabolism in rainbow trout: implications in glucose homeostasis and glucosensing capacity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 299, 19–32. Doi:10.1152/ajpregu.00005.2010.
- Polakof, S., Mommsen, T., y Soengas, J. (2011a). Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 160, 123-149.
- Polakof, S., Moon, T., Aguirre, Skiba-Cassy, S., y Panserat, S. (2011b). Glucose homeostasis in rainbow trout fed a high-carbohydrate diet: metformin and insulin interact in a tissue-dependent manner. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 300, R166–R174. Doi:10.1152/ajpregu.00619.2010.
- Prunet, P., Sturm, A., Milla, S. (2006). Multiple corticosteroid receptors in fish: from old ideas to new concepts. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 147, 17-23.
- Randall, D., Burggren, W. y French, K. (2002). Fisiología Animal, Mecanismos y adaptaciones. 4^{ta} Edición. Madrid, España: Mc Graw Hill Interamericana.
- Reid, S., Furimsky, M y Perry, S. (1994). The effects of repeated physical stress or fasting on catecholamine storage and release in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Fish. Biol.*, 45(3), 365-378.
- Reid, S., Bernier, N., Perry, S. (1998). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamines storage and release. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, 120, 1-27.
- Rodríguez, E. (2017). Respuestas fisiológicas de peces sometidos a estrés. (Tesis de pregrado). Universidad de los Lagos, Chile.
- Rojas, P. (2005). Efecto de la dieta sobre los niveles plasmáticos de insulina y Glucagón en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y dorada (*Sparus aurata*) y caracterización del transportador de glucosa de dorada. (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, España.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Romero, O., Frank, N., Cervantes, R., Cadena, J., Montijo, E., Zárate, F., Cázares, J., Ramírez, J. (2012). Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. *Acta. Pediatr. Mex.*, 33(4), 207-214.
- Rønnestad, I., Kamisaka, L., Concelcao, S., Morais, S., y Tonheim, K. (2007). Digestive physiology of marine fish larvae: Hormonal control and processing capacity for proteins, peptides and amino acids. *Aquacult.*, 268, 82-97.
- Rotllant, J. y Tort, L. (1997). Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. *Fish. Biol.*, 51, 21-28.
- Rotllant, J., Balm, P., Ruane, N., Perez, J., Wendelaar-Bonga, S. y Tort, L. (2000). Pituitary proopiomelanocortin-derived peptides and hypothalamuspituitary- interrenal axis activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during prolonged crowding stress: Differential regulation of adrenocorticotropin hormone and alpha-melanocystestimulating hormone release by corticotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 119, 152-163.
- Rovainen, C.M. (1970). Glucose production by lamprey meninges. *Science*, 167, 889-890.
- Ruane, N., Wendelaar-Bonga, S., Balm, P. (1999). Differences between rainbow trout and Brown trout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiology performance during confinement. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 115, 210-219.
- Sánchez, J. (2009). Biología de la alimentación de la trucha común (*Salmo trutta* Linné, 1758) en los Ríos de Galicia. (Tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España.
- Sasselli, V., Pachinis, V. y Burns, A. J. (2012). The enteric nervous system. *Developmental Biology*, 366, 64-73. Doi:10.1016/j.ydbio.2012.01.012.
- Santos, J., Lopez, K., Dias, C., Martins, C., Lemos, D., Carvalho, L., y Souza, R. (2016). Digestive enzyme activity in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) under pond and cage farming systems. *Fish Physiol Biochem*, 42(5), 1259-1274. Doi: 10.1007/s10695-016-0215-5
- Sardella, B., Matey, V., y Brauner, C. (2007). Coping with multiple stressors: physiological mechanisms and strategies in fishes of the Salton Sea. *Lake and Reservoir Management*, 23, 518-527.
- Schmidt, H. y Wegener, G. (1988). Glycogen phosphorylase in fish brain (*Carassius carassius*) during hypoxia. *Biochem. Soc. Trans.*, 16, 621-622.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Schreck, C., Contreras, W. y Fitzpatrick, M. (2001). Effect of stress on fish reproduction gamete quality, and progeny. *Aquaria*, 197, 3-24.
- Schwartz, M., Woods, S., Porte, D., Seeley, R., y Baskin, D. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404, 661-671.
- Sewer, M., Dammer, E., Jagarlapudi, S. (2007). Transcriptional regulation of adrenocortical steroidogenic gene expression. *Drug Metabolism Reviews*, 39, 371-388.
- Shan, X., Huang, W., Cao, L., Xiao, Z., y Dou, S. (2009). Ontogenetic development of digestive enzymes and effect of starvation in miiuy croaker *Miichthys miiuy* larvae. *Fish Physiol. Biochem.*, 35, 385-398.
- Sheridan, M. (1988). Lipid dynamics in fish: aspect of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol*, 90B., 679-690.
- Shimeo, S., Tkeda, M., Fukui, A., Sasaki, H., y Kajiyama, H. (1981). Metabolic regulation in fishes. 2. Adaptation of hepatopancreatic enzymes to dietary carbohydrate in carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 47, 71-77.
- Soengas, J., y Moon, T. (1995). Uptake and metabolism of glucose, alanine and lactate by red blood cells of the American eel *Anguilla rostrata*. *J. Exp. Bio.*, 198, 877-888.
- Soengas, J., Strong, E., Fuentes, J., Veira, J., y Andrés, M. (1996). Food deprivation and refeeding in Atlantic salmon, *Salmon salar*. Effects on brain and liver carbohydrate and ketne bodies metabolism. *Fish Physiol. Biochem.*, 15, 491-511.
- Soengas, J., y Moon, T. (1998a). Transport and metabolism of glucose in isolated enterocytes of the black bullhead *Ictalurus melas*: Effect of diet and hormones. *J. Exp. Biol.*, 201, 3263-3273.
- Soengas, J., Strong, E., Andrés, M. (1998b). Glucose, lactate, and β -hydroxybutyrate utilization by rainbow trout brain: changes during food deprivation. *Physiol. Zool.*, 71, 285-293.
- Soengas J., y Aldegunde M. (2002). Energy metabolism of fish brain. *Comp. Biochem. Physiol. B.*, 131, 271-296.
- Sveinsdóttir, H., Thorarensen, H. y Gudmundsdóttir, A. (2006). Involvement of trypsin and chymotrypsin activities in Atlantic cod (*Gadus morhua*) embryogenesis. *Aquaculture*, 260, 307-314.
- van de Werve, G., Lange, A., Newgard, C., Mechin, M., Li, Y., y Berteloot, A. (2000). New lessons in the regulation of glucose metabolism taught by the glucose 6-phosphatase system. *Eur. J. Biochem.*, 267, 1533-1549.
- Viera, R., dos Santos, K., Figueiredo, K., Flores, F., Teixeira, E., y Tavares, L. (2015). Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

Lat. Am. J. Aquat. Res., 43(5), 828-835. Doi: 10.3856/vol43-issue5-fulltext-3

- Vidaña, L y Mediha, A. (2013). (Miércoles 03 de Abril de 2013). Bioregulación del metabolismo. [Mensaje en un blog]. Recuperado de: <http://bioregulaciondelmetabolismo.blogspot.com/2013/04/adrenalina.html>
- Videz, A. (sábado 12 de enero de 2013). "Aparato Digestivo en peces". [Mensaje de un blog]. Recuperado de: <http://slideplayer.es/slide/1107686/>
- Villarreal, A., Reyes, H., Bermúdez, B. y Arizpe, O. (2000). Los peces del arrecife de Cabo Pulmo, Golfo de California, México: Lista sistemática y aspectos de abundancia y biogeografía. *Rev. Biol. Trop.*, 48, 2-3.
- Takei, Y., y Loretz, C. (2011). The gastrointestinal tract as an endocrine/neuroendocrine/paracrine organ: organization, chemical messengers and physiological targets. In M, Grosell., A, Farrel., y C, Brauner. (Eds). The multifunctional gut of fish. First edition. United Kingdom: Academic Press.
- Thorens, B. (2011). Brain glucose sensing and neural regulation of insulin and glucagón secretion. *Diabet.Obes.Metab.*, 1, 82-88. Doi:10.1111/j.1463- 1326.2011.01453.x
- Tintos, A., Gesto, M., Álvarez, R., Míguez, J., y Soengas, J. (2006). Interactive effects of naphthalene treatment and the onset of vitellogenesis on energy metabolism in liver and gonad, and plasma steroid hormones of rainbow trout, *Oncorhynchus*.
- Tort, L. (1998). Stress and immunosuppression in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 5, 17-29.
- Tort, L., Balasch, J. C. y MacKenzie, S. (2005). Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contributions to Science*, 2-4, 443-454.
- Tseng, Y., Huang, C., Chang, J., Teng, W., Baba, O., Fann, M., y Hwang, P. (2007). Glycogen phosphorylase in glycogen-rich cells is involved in the energy supply for ion regulation in fish gill epithelia. *Am. J. Physiol.*, 293, R482-R491.
- Washburn, B.S., Bruss, M.L., Avery, E.H. y Freedland, R.A. (1992). Effects of estrogen on whole animal and tissue glucose use in female and male rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 263, R1241-R1247.
- Watson, R., Kanzaki, M., Pessin, J. (2004). Regulated membrane trafficking of the insulin-responsive glucose transporter 4 in adipocytes. *Endocrine Reviews*, 25, 177-204.



Efecto de la salinidad sobre el metabolismo del glucógeno hepático y cerebral tras la ingesta de alimento, usando como organismo de ensayo a Tilapia Roja (Oreochromis spp.).

- Weber, J. (1992). Pathways for oxidative fuel provision to working muscles: ecological consequences of maximal supply limitations. *Experimentia*, 48, 557-564.
- Wendelaar-Bonga, S (1997). The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77, 591-625.
- Weyts, F. A., Cohen, N., Flik, G. y Verburg-van Kemenade, B. M. (1999). Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 9, 1-20.
- Wu, S., Chen, C., Lee, Y., Leu, H., y Lin, N. (2006). Cortisol and copper induce metallothionein expression in three tissues of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in organ culture. *Zool. Stud.*, 45, 363-370.
- Yong-Yun, Ch., Ti-Yin, Z., Hai-Yan, Ch., Shi-Mei, L., Li, L. y De-Shou W. (2017). Simultaneous stimulation of glycolysis and gluconeogenesis by feeding in the anterior intestine of the omnivorous GIFT tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biologist open*, 6, 818-824.
- Zhang, Y., Himmel, M., y Mielenz, J. (2006). Outlook for cellulose improvement: screening and selection strategies. *Biotech. Advan.*, 24, 452-481.
- Zaca, Y. (sábado 19 de noviembre de 2016). "Metabolismo del glucógeno". [Mensaje de blog]. Recuperado de: <http://nutricionymetabolismoglucogeno.blogspot.com/>
- Zavala, I., Dumas, S y Peña, R. (2011). Organogénesis durante el período larval en pees. *CICIMAR Océánides*, 26 (2), 19-30.
- Zamora, N., y Rubio, V. (2009). La digestión en peces. En F. Sanz. (Ed.). *La nutrición y la alimentación en piscicultura*. (15-47) Madrid, España: Discript preimpresión, S. L.
- Zorzano, A., Palacin, M., Guma, A. (2005). Mechanisms regulating GLUT4 glucose transporter expression and glucose transport in skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 183, 43-58.