

Resumen

El sistema de melanocortina es una estructura clave en la regulación de una amplia gama de funciones fisiológicas que incluyen la melanogénesis, la respuesta al estrés y el equilibrio energético, mediante la unión a una familia de receptores acoplados a la proteína G específicos (Mc1r-Mc5r). La sobreexpresión de agonistas inversos, la proteína de señalización agutí (Asip) y la proteína relacionada con agutí (Agrp) da como resultado un aumento de la ingesta de alimentos, de crecimiento lineal y de peso corporal. Asip regula la polaridad de pigmentación dorso-ventral a través del Mc1r, y la sobreexpresión induce obesidad en ratones al unirse al Mc4r central. La sobreexpresión de *asip1* en el pez cebra transgénico (*asip1*-Tg) mejora el crecimiento, sin afectar la acumulación lipídica (obesidad), incluso cuando se alimentan bajo regímenes inductores severos. Los peces *asip1*-Tg no necesitan comer más para crecer más y más rápido, lo que sugiere una mayor eficiencia alimentaria. Además, los peces *asip1*-Tg criados en alta densidad son capaces de crecer mucho más que los peces de tipo salvaje (WT) criados en baja densidad, aunque los peces *asip1*-Tg parecen ser más sensibles al estrés por hacinamiento que los peces WT.

El análisis transcriptómico comparativo del intestino de *asip1*-Tg refleja una expresión diferencial de transportadores aminoácidos, monocarboxilatos, transportadores iónicos y de vitaminas. La sobreexpresión reduce la integridad del epitelio intestinal aumentando su permeabilidad paracelular y potencia el transporte electrogénico de aminoácidos. Así, la combinación de resultados transcriptómicos y electrofisiológicos sugiere que los peces transgénicos poseen mayor capacidad para la absorción de nutrientes y, por extensión una mejora en la eficiencia alimenticia que podría explicar, en parte, ese crecimiento diferencial bajo tasas de ingesta similares.

Esta tesis tuvo también como objetivo investigar el fenotipo comportamental de los animales *asip1*-Tg, específicamente si mantienen un fenotipo dominante asociado con una mayor tasa de alimentación. Los resultados experimentales utilizando luchas diádicas y el test de reflejo especular muestran, por el contrario, un carácter reactivo/subordinado en los *asip1*-Tg que aboga directamente por una participación del sistema de melanocortinas en la regulación del comportamiento de peces. Mejorar la motivación alimentaria sin promover la agresividad en los peces, evitando la amenaza a las poblaciones nativas en caso de un escape de las instalaciones de cultivo, hace que la inhibición del sistema de melanocortinas, a través de la sobreexpresión de *asip1*, sea un objetivo factible para el desarrollo de líneas genéticamente modificados, cuya

comercialización está autorizada por la agencia gubernamental estadounidense de alimentos y medicamentos (FDA).

El perfil subordinado de los animales *asip1-Tg*, junto con una activación del eje del estrés, sugiere que estos animales pueden mostrar un comportamiento de ansiedad. Con el fin de analizarlo, utilizamos diversos test comportamentales ya estandarizados que incluyen el test de “campo abierto” (CA), “nuevo objeto (NO)” y “nuevo tanque (NTDT)”. En todos los test los resultados indicaron que los peces *asip1-Tg* muestran un comportamiento similar a nuestro concepto de ansiedad que además está íntimamente relacionado con una severa disminución de los niveles centrales de serotonina (5HT) y dopamina y elevación de su recaptación neuronal y degradación. La administración de fluoxetina, un inhibidor de la recaptación de serotonina (ISRS), es capaz de recuperar el fenotipo comportamental salvaje, mitigando el comportamiento de ansiedad en los peces transgénicos y rescatando los niveles centrales de 5HT.

Este comportamiento de ansiedad podría repercutir en una alteración del comportamiento locomotor de los animales, por ello estudiamos las diferencias potenciales en los ritmos circadianos de actividad locomotora (RCAL). Los resultados muestran que los animales *asip1-Tg* exhiben una disrupción completa del ritmo de actividad, con una actividad muy elevada durante todo el ciclo diario, pero especialmente durante la noche, periodo en el cual los animales WT reducen a niveles basales su actividad. Esta disrupción es concomitante con una desaparición del ritmo diario de serotonina y melatonina, hormona secretada desde la pineal durante el periodo nocturno que gobierna los periodos de sueño/vigilia, debido a la inhibición de su secreción nocturna. Además, los resultados muestran una pérdida de ritmos de expresión de genes reloj (*per1a* y *clock1a*) mostrando también una disrupción del reloj molecular. La incubación, *in vitro*, de glándulas pineales con *Asip1* produjo una inhibición de la secreción de melatonina replicando los resultados obtenidos *in vivo* y demostrando un efecto directo de *Asip1*, a través de receptores específicos, sobre la fisiología de la pineal.

El pez cebra se ha convertido en un organismo modelo importante para estudios de los efectos metabólicos sobre los procesos emocionales y cognitivos. En esta tesis doctoral, se utilizó como modelo para investigar los efectos de la obesidad inducida por sobrealimentación sobre el comportamiento de ansiedad y sobre los procesos cognitivos (aprendizaje y memoria). La obesidad no tuvo ningún efecto sobre la ansiedad, pero produjo una disminución de la memoria a corto plazo, estudiada mediante test de condicionamiento aversivo. Este estudio proporciona, además, un protocolo fiable para

evaluar el efecto de las enfermedades metabólica en la función cognitiva y conductual, lo que respalda al pez cebra como modelo para la neurociencia cognitiva y conductual.